



UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

A FUNÇÃO DO EIXO HIPOFISÁRIO - ADRENAL EM GATOS COM DOENÇA  
ONCOLÓGICA NÃO - HEMATOPOIÉTICA

ANA TERESA ABRANTES PERES

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António José de Freitas Duarte  
Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito  
Doutor Jorge Manuel Jesus Correia  
Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

CO-ORIENTADOR

Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito

2010

LISBOA

---







UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

A FUNÇÃO DO EIXO HIPOFISÁRIO - ADRENAL EM GATOS COM DOENÇA  
ONCOLÓGICA NÃO - HEMATOPOIÉTICA

ANA TERESA ABRANTES PERES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor António José de Freitas Duarte  
Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito  
Doutor Jorge Manuel Jesus Correia  
Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

ORIENTADOR

Dr. Gonçalo Eduardo Vítor Vicente

CO-ORIENTADOR

Doutora Maria Teresa da Costa  
Mendes Vítor Villa de Brito

2010

LISBOA

---

# DECLARAÇÃO RELATIVA ÀS CONDIÇÕES DE REPRODUÇÃO DA TESE

## DECLARAÇÃO

Nome ANA TERESA ABRANTES PERES

Endereço electrónico [anateresa.aperes@hotmail.com](mailto:anateresa.aperes@hotmail.com)

Telefone 964277406/ 916754348

Número do Bilhete de Identidade 12715505

Título: Dissertação

A FUNÇÃO DO EIXO HIPOFISÁRIO - ADRENAL EM GATOS COM DOENÇA  
ONCOLÓGICA NÃO – HEMATOPOIÉTICA

Orientadores

Prof. Dr.a Maria Teresa da Costa Mendes Vitor Villa de Brito,

Dr. Gonçalo Eduardo Vitor Vicente Ano de conclusão 2010

Designação do Mestrado ou do ramo de conhecimento do Doutoramento

Mestrado Integrado em Medicina Veterinária

É AUTORIZADA A REPRODUÇÃO INTEGRAL DESTA TESE/TRABALHO APENAS PARA EFEITOS DE INVESTIGAÇÃO, MEDIANTE DECLARAÇÃO ESCRITA DO INTERESSADO, QUE A TAL SE COMPROMETE.

Faculdade de Medicina Veterinária da UTL, 09/02/2010

Assinatura: \_\_\_\_\_





*“A mente que se abre a uma nova ideia,  
jamais regressa ao seu tamanho original”*

*Albert Einstein (1879-1955)*





*À minha mãe, ao meu pai...*

*Ao meu querido avô Damião...*

*Ao meu Romeu...*

*Aos pequenos animais de companhia deste estudo...*

*A todos os animais...*



---

## Agradecimentos

---

À minha Co-Orientadora, *Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maria Teresa Villa de Brito*, por todo o apoio, disponibilidade e acompanhamento prestado na realização desta dissertação. Pela amizade, boa-disposição e por todos os conhecimentos partilhados enquanto orientadora e professora... Pela transmissão do gosto pela medicina de animais de companhia, principalmente pela endocrinologia.

Ao meu Orientador, *Dr. Gonçalo Vicente*, porque mais do que orientador, transformou-se num grande amigo... Pelo apoio, ajuda e confiança constantes durante o estágio e aquando da realização desta dissertação... Pela partilha de conhecimentos, pelo exemplo como profissional de excelência...

Ao Director do Hospital Escolar da FMV, *Prof. Dr. António Ferreira*, pela possibilidade de estagiar no Hospital Escolar da FMV e por ter proporcionado as condições para realizar este estudo no hospital que dirige.

Ao *Dr. Nuno Félix*, pelo seu papel na escolha do tema desta dissertação e pela ajuda e apoio incansáveis e motivação constante na realização da mesma... Pela transmissão do gosto pela investigação científica...

A todo o corpo clínico, auxiliares, recepcionistas e colegas estagiários do Hospital Escolar da FMV-UTL, pelo excelente ambiente de estágio proporcionado e por me terem ajudado, cada um de forma única, a crescer como pessoa e como futura profissional. Um obrigado especial ao *Dr. Óscar Gamboa* e ao *Dr. Ricardo Marques*, pela amizade, boa disposição e profissionalismo.

À *Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Isabel Neto* pela amabilidade e auxílio na realização do estudo estatístico.

Ao *Dr. Hugo Carvalho* do *Cedivet*, pela disponibilidade para a realização dos doseamentos hormonais do estudo.

À minha mãe, *Conceição Abrantes*, porque sem ela nada seria possível... Por todo o amor, ajuda incansável e confiança incondicional em todos os momentos, principalmente naqueles em que só ela acreditava que eu conseguiria ultrapassar todos os obstáculos, até atingir os meus objectivos, os meus sonhos...

Ao meu pai, *António Peres*, pelo pilar que é na minha vida, no que sou, mesmo que nem sempre se aperceba... Pela presença constante, pelo amor, pelo realismo, por ter respeitado e apoiado todas as decisões que tomei... Por me ter deixado nos genes a enorme paixão pelos animais...

Aos meus avós, *Nilda Duro*, *Jesus* e *Arménio Peres*, pelo amor e carinho constantes...

Aos meus colegas e grandes grandes amigos, *Ana Gradil*, *Marta Brito*, *Sofia Soares*, *Sofia Simões*, *Gustavo Duarte*, *Tiago Mota*, *Carolina Albuquerque*, porque sem vocês a faculdade não faria qualquer sentido e a minha vida seria tão mais cinzenta...estarão sempre no meu coração...

Aos meus amigos de Peniche, principalmente à *Mafalda Chaves*, *Mafalda Leitão*, *Mariana Inácio*, *Mariana Simões*, *Catarina Ângelo* e *Miguel Louro* por toda a amizade e aventuras vividas desde sempre...

Ao *Bruno Domingos*, o meu melhor amigo, o meu confidente, o meu companheiro em todos os momentos... o meu amor...

A todos... Obrigada



---

## Resumo

---

### **A Função do Eixo Hipofisário-Adrenal em Gatos com Doença Oncológica Não-Hematopoiética**

A ocorrência de um processo patológico promove uma panóplia de efeitos metabólicos no organismo. Neste âmbito, a activação do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA) constitui uma parte vital na resposta fisiológica ao stress, sendo um mediador essencial na manutenção da homeostase do organismo e na adaptação ao estado de doença. Diversos estudos têm documentado alterações na função deste eixo no decurso de afecções não adrenais, nomeadamente na doença oncológica, quer no ser humano quer em algumas espécies animais, as quais parecem contribuir para a morbilidade dos doentes. Na presente dissertação, após uma abordagem geral dos aspectos estruturais e funcionais do eixo HHA bem como dos efeitos da doença não-adrenal, principalmente da doença oncológica, na função deste eixo, é apresentado um estudo experimental acerca da função do eixo hipofisário-adrenal (HA) em felídeos com doença oncológica não-hematopoiética.

O teste de estimulação pela hormona adrenocorticotrópica (ACTH) bem como o doseamento da concentração plasmática de ACTH endógena foram realizados em gatas saudáveis e em gatas com doença oncológica não-hematopoiética. Em algumas gatas saudáveis e com neoplasia não-hematopoiética as dimensões das glândulas adrenais foram avaliadas ecograficamente. Todas as medições foram efectuadas previamente ao início da terapêutica antineoplásica.

Não foram detectadas diferenças estatísticas entre as gatas saudáveis e as gatas com doença oncológica relativamente às concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação com ACTH exógena bem como às concentrações de ACTH endógena. Contudo, das 5 gatas com doença oncológica, uma apresentou aumento da concentração plasmática de cortisol basal (6,80 µg/dl), uma teve resposta diminuída ao teste de estimulação pela ACTH (3,80 µg/dl) e três apresentaram concentração plasmática de ACTH endógena diminuída (5,00; 9,70 e 9,70 pg/ml). Todas as glândulas adrenais medidas encontravam-se normodimensionadas. A fisiopatologia e o significado clínico destes dados não foram determinados.

Este estudo permitiu concluir que o clínico não deve subestimar esta problemática, uma vez que as evidências apontam para a existência de alterações na função do eixo HA no decurso de doença, devendo o clínico, estar atento a possíveis sinais e, caso existam, encorajar o recurso a uma abordagem diagnóstica adequada dos mesmos.

Palavras chave:

ACTH, cortisol, doença oncológica, gato, glândula adrenal, hipófise.

---

## Abstract

---

### **Pituitary-adrenal axis function in cats with non-hematopoietic cancer**

A wide range of metabolic effects occurs when a pathologic disease is installed in the body. In this context, the activation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA) is a vital part in the physiological response to stress being an essential mediator in the maintenance of homeostasis and adaptation to the disease. Several studies have documented changes in the biological function of this axis during non-adrenal disorders, particularly in cancer disease, either in humans or in some animal species, which appear to contribute to the morbidity in patients. This study presents a general approach to structural and functional aspects of the HPA axis and the effects of non-adrenal disease, particularly in cancer illness and the effect on the axis function, and an experimental study about the function of the pituitary-adrenal axis (HA) in felines with non-hematopoietic cancer.

A stimulation test using the adrenocorticotrophic hormone (ACTH) as well as the measurement of plasma concentration of endogenous ACTH were performed in healthy cats and in cats with non-hematopoietic cancer. In some healthy as well as cats with non-hematopoietic cancer, the size of the adrenal glands was evaluated by ultrasound. All measurements were taken prior the anti-cancer therapy.

No statistical differences were found between healthy cats and cats with cancer in relation to cortisol plasma concentrations and post-stimulation tests as well as endogenous ACTH. However, concerning the five cats with cancer, one of these had increased cortisol plasma levels (6,80 µg/dl), one had decreased response to stimulation test for ACTH (3,80 µg/dl) and three had plasma decreased of endogenous ACTH (5,00; 9,70 e 9,70 pg/ml). All adrenal glands were normal in dimensional measures. The pathophysiology and the clinical significance of these data have not been determined.

This study indicates that veterinary doctors should not underestimate this issue, since there are evidences that show changes in the function of HA axis on the onset of the cancer disease so there should be an awareness of possible signs and, when they appear, adequate diagnostic methods should take place.

#### **Keywords:**

ACTH, adrenal gland, cancer, cat, cortisol, pituitary.

---

# Índices

---

Índice Geral
--------------

<b>Dedicatória .....</b>	<b>iii</b>
<b>Agradecimentos .....</b>	<b>v</b>
<b>Resumo .....</b>	<b>vi</b>
<b>Abstract .....</b>	<b>vii</b>
<b>Índices .....</b>	<b>viii</b>
<b>Descrição das Actividades Desenvolvidas no Estágio Curricular .....</b>	<b>xiv</b>
<b>Introdução .....</b>	<b>1</b>
<b>PARTE I – Revisão Bibliográfica: A Função do Eixo Hipofisário-Adrenal na Doença Oncológica</b>	
<b>1. O Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal .....</b>	<b>3</b>
1.1. O Hipotálamo .....	3
1.2. A Hipófise .....	4
1.3. As Glândulas Adrenais .....	7
1.3.1. Localização Anatómica .....	7
1.3.2. Estrutura Histológica e Função .....	8
<b>2. O Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal: Função e Regulação Hormonal ..</b>	<b>11</b>
2.1. Hormona Libertadora da Corticotrofina .....	11
2.2. Hormona Adrenocorticotrófica .....	13
2.2.1 Síntese de ACTH e a sua Regulação .....	13
2.2.2 Acção Fisiológica da ACTH .....	16
2.3. Os Glucocorticóides .....	16
2.3.1. Estrutura .....	17
2.3.2. Biossíntese .....	17
2.3.3. Regulação da Síntese do Cortisol .....	19
2.3.4. Metabolismo do Cortisol .....	20
2.3.5. Acções Fisiológicas dos Glucocorticóides .....	21



2.3.5.1. Mecanismo de Acção na Célula .....	21
2.3.5.2 Mecanismos de Acção no Organismo .....	22
<b>3. Avaliação da Função do Eixo Hipofisário-Adrenal .....</b>	<b>24</b>
<b>3.1. Exploração Funcional Específica .....</b>	<b>24</b>
3.1.1. Doseamento da Concentração Plasmática Basal de Cortisol .....	25
3.1.2 Teste de Estimulação pela ACTH .....	25
3.1.3 Rácio Cortisol/Creatinina Urinários .....	28
3.1.4 Doseamento de ACTH Endógena Basal .....	29
3.1.5 Teste de Estimulação pela CRH .....	30
<b>3.2. A imagiologia .....</b>	<b>31</b>
3.2.1. Radiologia.....	31
3.2.2. Ecografia.....	31
3.2.3. Tomografia Axial Computorizada e Ressonância Magnética .....	33
<b>4. A Função do Eixo Hipofisário-Adrenal na Doença Oncológica .....</b>	<b>34</b>
<b>4.1. Alteração do Eixo Hipofisário-Adrenal na Doença Não-Adrenal .....</b>	<b>34</b>
<b>4.2. Doença Oncológica: Efeitos na Função do Eixo Hipofisário-Adrenal .....</b>	<b>39</b>
4.2.1. Síndrome de ACTH Ectópica .....	44
 <b>Parte II - Avaliação do Eixo Hipofisário-Adrenal em Gatos com Doença Oncológica: Estudo Experimental</b>	
<b>1. Estudo Experimental .....</b>	<b>47</b>
<b>1.1. Introdução .....</b>	<b>47</b>
<b>1.2. Métodos e Materiais .....</b>	<b>47</b>
1.2.1. Animais .....	47
1.2.2. Colheita de Amostras para Procedimento Histopatológico .....	48
1.2.3. Avaliação do Eixo Hipofisário-Adrenal .....	48
1.2.4. Técnica utilizada para os Doseamentos Hormonais .....	48
1.2.5. Avaliação Ecográfica das Glândulas Adrenais .....	49
1.2.6. Análise Estatística .....	49
<b>1.3. Resultados .....</b>	<b>49</b>
1.3.1. Caracterização da Amostra .....	49
1.3.2. Valores de Cortisolémia Basal, de Cortisolémia pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena .....	51
1.3.3. Resultados Ecográficos .....	55
<b>1.4. Discussão .....</b>	<b>56</b>

<b>1.5 Conclusão .....</b>	<b>59</b>
<b>Bibliografia .....</b>	<b>60</b>

### Índice de Figuras

<b>Figura 1:</b> Localização anatómica e divisão morfológica da hipófise .....	<b>4</b>
<b>Figura 2:</b> A secreção hormonal do eixo hipotalâmico-hipofisário e o sistema porta hipofisário.....	<b>7</b>
<b>Figura 3:</b> Localização anatómica das glândulas adrenais .....	<b>8</b>
<b>Figura 4:</b> Cortes histológicos das diferentes zonas da glândula adrenal .....	<b>10</b>
<b>Figura 5:</b> Diagrama esquemático da produção hormonal e das hormonas que actuam nas diferentes zonas da adrenal .....	<b>10</b>
<b>Figura 6:</b> Esquema representativo da pré-opiomelanocortina (POMC): sítios preferenciais de clivagem indicados pelos pares de aminoácidos e os principais péptidos derivados da molécula .....	<b>13</b>
<b>Figura 7:</b> Síntese de ACTH e outros péptidos biologicamente activos por clivagem da POMC.....	<b>14</b>
<b>Figura 8:</b> Estrutura molecular do cortisol .....	<b>17</b>
<b>Figura 9:</b> Estrutura molecular do colesterol .....	<b>18</b>
<b>Figura 10:</b> Mecanismo global da biossíntese das principais hormonas esteróides pelas diferentes zonas do córtex adrenal .....	<b>19</b>
<b>Figura 11:</b> Funções dos glucocorticóides no organismo .....	<b>23</b>
<b>Figura 12:</b> Diagrama referente aos princípios gerais do teste de estimulação pela ACTH.....	<b>26</b>

### Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1:</b> Distribuição das idades (anos) em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com neoplasia (grupo com doença oncológica) .....	<b>50</b>
<b>Gráfico 2:</b> Distribuição do peso vivo (kg) em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com neoplasia (grupo com doença oncológica) .....	<b>50</b>

<b>Gráfico 3:</b> Distribuição das concentrações plasmáticas de cortisol basal (t0) (A) e pós-estimulação pela ACTH (t1) (B) em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica) .....	54
<b>Gráfico 4:</b> Distribuição das concentrações plasmáticas de ACTH endógena em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica) .....	55

## Índice de Quadros

<b>Quadro 1:</b> Concentrações plasmáticas médias de cortisol basal e pós-estimulação e de ACTH endógena em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica) .....	51
<b>Quadro 2:</b> Concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena nas quatro gatas saudáveis .....	52
<b>Quadro 3:</b> Concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena nas cinco gatas com doença oncológica .....	53
<b>Quadro 4:</b> Número (percentagem) de valores anómalos das concentrações das concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação (pós-ACTH) e de ACTH endógena, em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica) .....	54

## Índice de Abreviaturas

ACTH: Hormona adrenocorticotrófica ou corticotrofina (*Adrenocorticotropic Hormone*)  
ADN: Ácido Desoxirribonucleico  
AMPc: Adenosina- Monofosfato cíclico  
ARN: Ácido Ribonucleico  
ATP: Adenosina-Trifosfato  
C: Carbono  
CBG: *Corticosteroid-Binding-Globulin*  
CHVF: *Centre Hospitalier Vétérinaire Frégis*  
CLIP: *Corticotropin-like Intermediate Lobe Peptide*

CRH: Hormona libertadora da corticotrofina (*Corticotropin-releasing Hormone*)

CRIF: *Corticotropin Release-inhibitory Factor*

EDTA: Ácido Etileno Diaminotetracético

ELISA: *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay*

FMV: Faculdade de Medicina Veterinária

FSH: Hormona Estimulante dos Folículos (*Follicle Stimulating Hormone*)

GABA: Ácido Gama-Amino-Butírico

GH: Hormona do Crescimento (*Growth Hormone*)

HA: Eixo Hipofisário-Adrenal

HHA: Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal

IL: Interleucinas

IM: Via de administração intramuscular

IV: Via de administração endovenosa

LDL: Lipoproteínas de baixa densidade (*Low Density Lipoproteins*)

LH: Hormona Luteinizante (*Luteinizing hormone*)

LIF: *Leukemia Inhibitory Factor*

PC 1: Pró-hormona Convertase do tipo 1

PC 2: Pró-hormona Convertase do tipo 2

POMC: Pré-opiomelanocortina

PV: Peso vivo

RAI: Insuficiência Adrenal Relativa (*Relative Adrenal Insufficiency*)

RCCU: Rácio Cortisol-Creatinina Urinário

RM: Ressonância Magnética

SNC: Sistema Nervoso Central

StAR: *Steroidogenic Acute Regulatory Protein*

TAC: Tomografia Axial Computorizada

TNF  $\alpha$ : Factor de Necrose Tumoral alfa

TRH: Hormona libertadora da tireotrofina (*Thyrotropin Releasing Hormone*)

TSH: Tirotrófina (*Thyroid Stimulating Hormone*)

UTL: Universidade Técnica de Lisboa

V1b: Receptores Hipofisários Específicos

$\alpha$ -MSH: Hormona melanócito-estimulante tipo  $\alpha$  ( $\alpha$  – *Melanocyte Stimulating Hormone*)

$\beta$  – EP: beta endorfinas

$\beta$ -LPH: beta lipotrofina



---

## **Descrição das Actividades Desenvolvidas no Estágio Curricular**

---

O estágio curricular que serviu de base para esta dissertação foi realizado na área de Medicina e Cirurgia de Animais de Companhia.

Este estágio, com a duração total de 1154 horas (h), foi realizado no Centre Hospitalier Vétérinaire Frégis - CHVF (378 h), no período compreendido entre 1 de Outubro e 30 de Novembro de 2008, sob orientação do Dr. Juan Hernadez, e no Hospital Escolar da Faculdade de Medicina Veterinária da Universidade Técnica de Lisboa – FMV-UTL (776 h), entre os dias 16 de Fevereiro e 31 de Maio de 2009, sob a orientação da Professora Doutora Maria Teresa Villa de Brito e com acompanhamento do Dr. Gonçalo Vicente.

### **Actividades desenvolvidas no Centre Hospitalier Vétérinaire Frégis**

O CHVF é um centro hospitalar veterinário privado francês para animais de companhia, que se encontra subdividido nos serviços de Medicina Interna, Cirurgia Geral, Consultas de Especialidade (Cardiologia-Pneumologia, Dermatologia, Endocrinologia, Gastrenterologia, Ortopedia, Oftalmologia, Neurologia-Neurocirurgia, Oncologia, Nutrição e Novos Animais de Companhia), Urgências e Internamento. Os serviços de medicina interna e de cirurgia bem como as consultas de especialidade funcionam por marcação de consultas, as quais decorrem de 2ª feira a Sábado entre as 9 e as 19 h, enquanto os serviços de urgências e de internamento se encontram em funcionamento 24 h por dia, 365 dias por ano.

O CHVF possibilita a realização de estágios nas áreas de medicina interna ou de cirurgia, conforme a preferência do estagiário, por isso, tendo em conta o interesse pessoal, a aluna estagiária optou pela realização do estágio na área de medicina interna.

O estágio de medicina interna no CHVF, teve duração de 378 h e englobou a rotação diária pelos serviços de medicina interna, consultas de especialidade, urgências e internamento de medicina. O plano diário do estágio era o seguinte (sujeito a variações diárias, conforme a casuística do CHVF):

- 7.30 h - 9 h: Observação e realização do exame clínico dos animais hospitalizados, participação na ronda clínica de apresentação / seguimento dos mesmos e na respectiva prescrição da medicação, dos exames complementares e dos cuidados médicos para o dia.
- 9 h – 12.30 h: Acompanhamento de consultas de especialidade ou de urgência e auxílio na realização dos respectivos exames complementares de diagnóstico (radiografia,

ecografia, ecocardiografia, mielografia, ressonância magnética, colheita de produtos biológicos e respectiva análise laboratorial, etc.) e tratamentos.

- 12.30 h – 13.30 h: Acompanhamento dos exames complementares de diagnósticos realizados pela Dra. Alexandra Gabriel (fibroscopias, biópsias ecoguiadas, etc.).
- 14.30 h – 18.30 h : Acompanhamento de consultas de especialidade ou de urgência e auxílio na realização dos respectivos exames complementares de diagnóstico e tratamentos.
- 18.30 h -20 h: Observação e realização do exame clínico dos animais hospitalizados, participação na ronda clínica de apresentação / seguimento dos mesmos, com análise dos resultados laboratoriais e dos exames complementares efectuados e prescrição da medicação e dos cuidados médicos para a noite. Visitas e contacto telefónico dos proprietários e participação na decisão e autorização para o regresso a casa dos animais hospitalizados.

Todas as actividades desenvolvidas foram supervisionadas pelos médicos e enfermeiros veterinários dos respectivos serviços.

A aluna estagiária participou ainda em formações semanais organizadas pelo corpo clínico do CHVF, durante as quais foram abordados diversos temas da prática clínica bem como desenvolvimentos recentes na medicina de animais de companhia.

Durante o estágio, a aluna estagiária realizou uma exposição escrita de um caso clínico à sua escolha, a qual incidiu sobre a “Endocardite Bacteriana no cão”, e foi ainda sujeita a duas avaliações escritas.

### **Actividades Desenvolvidas no Hospital Escolar da FMV-UTL**

O Hospital Escolar da FMV-UTL encontra-se subdividido nas áreas de Medicina Interna, Imagiologia, Cirurgia e Internamento. O serviço de medicina interna e imagiologia decorrem de 2ª a 6ª feira entre as 9 e as 20 h, enquanto o serviço de cirurgia funciona preferencialmente no período da manhã. A área de internamento tem um funcionamento de 24 h. Durante os fins-de-semana e feriados o hospital encontra-se fechado ao público, pelo que mantém apenas as actividades do internamento, que são executadas pelo estagiário de serviço sob supervisão do clínico assistente.

O estágio no hospital escolar da FMV-UTL decorreu num total de 776 h e compreendeu a rotação pelos serviços de Medicina Interna (344 h), Imagiologia (40 h), Cirurgia (80 h) e Internamento de Medicina e Cirurgia (312 h). Todas as actividades desenvolvidas foram supervisionadas pelos médicos veterinários dos respectivos serviços. A aluna estagiária participou também em algumas reuniões de estagiários, durante as quais foram abordados diversos temas da prática clínica.

De referir ainda que, independentemente do trabalho realizado nos diversos serviços, todos os alunos estagiários colaboraram e interagiram entre si, bem como com os estudantes do 3º, 4º e 5º ano do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária.

### **Serviço de Medicina Interna**

A aluna estagiária participou nas diversas consultas externas da FMV-UTL o que possibilitou o acompanhamento de diversos casos clínicos.

Neste serviço, foram efectuadas pré-consultas, nas quais se procedia à realização da anamnese, bem como do exame clínico do animal. A escolha do plano de diagnóstico tendo em conta a discussão dos vários diagnósticos diferenciais, a abordagem terapêutica a seguir, bem como, outras decisões clínicas foram realizadas em parceria e com a supervisão do médico veterinário assistente.

Assim, ficou responsável pelo encaminhamento dos diversos exames complementares de diagnóstico, nomeadamente a realização de radiografias, ecografias, ecocardiografias, tomografias axiais computadorizadas (TAC), colheitas de sangue e outros exames clínicos. A aluna estagiária participou ainda na realização de alguns tratamentos nomeadamente em sessões de quimioterapia, que incluíram a preparação do quimioterápico e monitorização do animal aquando do tratamento.

A área da medicina preventiva constitui uma percentagem significativa de todas as consultas existentes, nomeadamente no que concerne a vacinações, desparasitações interna e externa, e ainda a colocação de *microchip* para identificação do animal. A aluna considera esta área de grande importância, por promover o bem-estar e saúde animais, bem como a ressalva da saúde pública.

Durante o decorrer do estágio, participou ainda em consultas de referência de Neurologia, Oftalmologia, Dermatologia e de Animais Exóticos.

Neste serviço, a aluna teve, assim, o privilégio de participar em consultas de foro variado, percorrendo todas as áreas da medicina interna, essencialmente as áreas de endocrinologia, cardiologia, gastroenterologia, nefrologia, urologia e oncologia, entre outras.

### **Serviço de Imagiologia**

Durante a rotação pelo serviço de Imagiologia, que compreendeu um período de 40 h, a aluna estagiária teve a oportunidade, de contactar de perto com a técnica radiográfica. Em parceria, com os clínicos responsáveis participou no posicionamento dos animais, na realização e interpretação de radiografias, na realização e interpretação de outras técnicas imagiológicas, nomeadamente ecografias (abdominais e cardíacas) e TAC.



### **Serviço de Cirurgia**

Neste serviço, a aluna acompanhou os diversos animais desde o momento de admissão no hospital até ao internamento pós-cirúrgico. Na qualidade de observadora e de circulante bem como de ajudante de cirurgião, foi-lhe permitido, respectivamente, assistir ou participar activamente na cirurgia. Era também da sua competência auxiliar na indução anestésica e na monitorização da anestesia ao longo da cirurgia. O encaminhamento para o internamento associado a uma monitorização pós-operatória/ recuperação do animal (consultas de seguimento pós-operatório, remoção de pontos de sutura, aplicação de vários tipos de pensos e fisioterapia) representava também uma das suas funções.

### **Serviço de Internamento de Medicina e Cirurgia**

Neste serviço e sob a supervisão do clínico, a aluna ficou responsável pela realização de turnos com duração de 24 horas, durante os dias semanais, feriados e fins-de-semana, num total de 13 rotações.

Durante o internamento, a aluna estagiária recebia os animais provenientes das consultas de Medicina Interna e acompanhava os animais procedentes de cirurgia. Promovia os cuidados alimentares e de bem-estar a todos os animais internados, monitorizava a sua evolução clínica (nomeadamente através da monitorização dos sinais vitais: temperatura, coloração das mucosas, tempo de repleção capilar, frequência cardíaca, frequência respiratória, pulso, medição da glicose sanguínea e posterior realização de curvas de glicemia), realizava os diversos tratamentos estipulados, auxiliava na execução de exames complementares de diagnóstico e prestava os cuidados intensivos necessários. Era também da sua competência participar nas autorizações para as respectivas saídas dos animais do serviço de internamento.





## Introdução

---

Actualmente, a Doença Oncológica é reconhecida como sendo uma das doenças que mais afecta os carnívoros domésticos, constituindo a sua maior causa de morte (Withrow, 2007). Nos últimos anos, têm sido notadas várias mudanças na atitude e na abordagem dos proprietários bem como dos médicos veterinários no diagnóstico e terapêutica desta doença. Assim, as crescentes exigências têm contribuído e se reflectido na necessidade de alargar e aprofundar os conhecimentos científicos nesta temática.

Neste contexto e com o objectivo primordial de melhorar a abordagem clínica do doente veterinário oncológico, têm sido efectuados diversos estudos para o conhecimento e compreensão das anomalias moleculares que ocorrem no desenvolvimento e na progressão da doença oncológica, nomeadamente no que diz respeito às alterações do eixo hipotalâmico-hipofisário-adrenal (HHA), dado a sua importância na manutenção da homeostase do organismo e na adaptação ao estado de doença. Diversas alterações da função deste eixo têm sido documentadas no ser humano e em algumas espécies animais, não sendo completamente compreendidas.

Conscientes desta problemática e dado o interesse da autora pelas áreas de Oncologia e de Endocrinologia, a presente dissertação tem como objectivo avaliar os efeitos da doença oncológica na função do eixo hipofisário-adrenal (HA) na espécie felina.

**Parte I**

**Revisão Bibliográfica**

**A Função do Eixo Hipofisário-Adrenal**  
**na Doença Oncológica**

---

## 1. O Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal

---

As glândulas adrenais e o eixo hipotalâmico-hipofisário constituem, em conjunto com o sistema nervoso central (SNC), uma entidade funcional importante para a manutenção da homeostasia do organismo. As relações anatomo-fisiológicas existentes entre estes órgãos induzem a síntese e regulação de diversas hormonas esteróides das quais há a salientar o cortisol, a aldosterona e as hormonas sexuais (Feldman & Nelson, 2004a).

### 1.1 O Hipotálamo

O hipotálamo é um órgão de dimensões reduzidas que funciona como interface entre o sistema nervoso e o sistema endócrino, desempenhando funções vitais para o organismo (Cunningham, 1999).

Esta região encefálica, com origem embriológica no tubo neural, situa-se na base ventral do diencefalo, constituindo a parte inferior das paredes laterais e a base do terceiro ventrículo. Como o seu nome sugere, o hipotálamo localiza-se ventralmente ao tálamo, do qual se separa pelo sulco hipotalâmico. As suas ligações craniais são promovidas pelo quiasma óptico e lateralmente está separado dos lobos temporais pelo sulco hipotalâmico já referido. É ainda limitado caudalmente pelos processos mamilares. Ventralmente, o hipotálamo é constituído pelo tubo cinéreo, cuja parte central consiste na eminência média e que se continua pelo infundíbulo, que o liga à hipófise (Getty, 1986; Ojede & MacCann, 2000). A posição estratégica do hipotálamo permite ainda numerosas conexões com diferentes áreas cerebrais, o que faculta a intensa comunicação funcional existente, facilitando a receção e expressão dos numerosos e distintos impulsos nervosos.

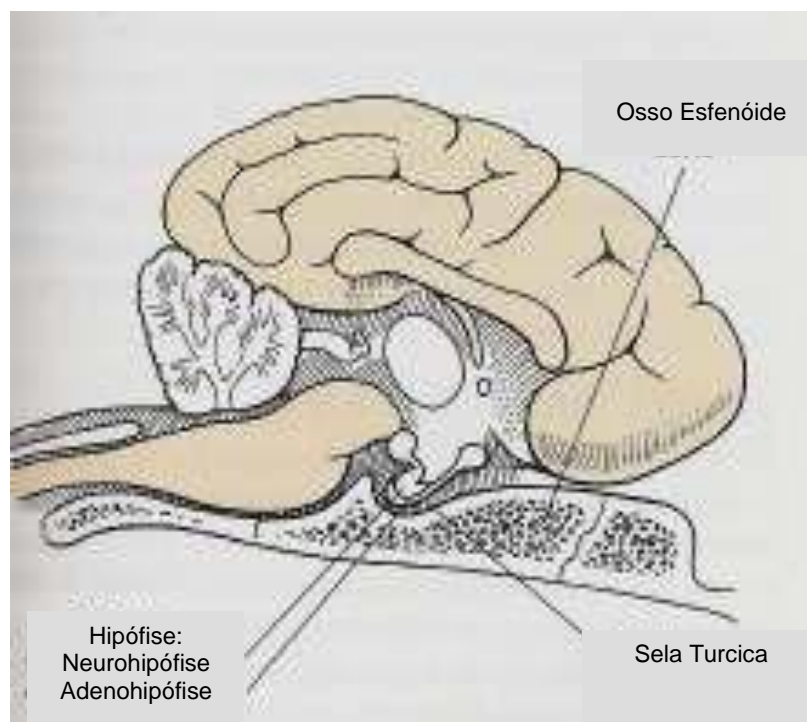
Histologicamente, o hipotálamo é constituído por uma diversidade de corpos celulares de numerosos neurónios neurosecretores dispostos em grupos mal definidos mas funcionalmente relacionados, designados por núcleos. Estes núcleos dispõem-se por quatro zonas: hipotálamo anterior ou pré-óptico (destacam-se o núcleo para-ventricular, produtor de hormona libertadora da corticotrofina [Corticotropin-releasing hormone - CRH] e de ocitocina, e o núcleo supra-óptico, produtor de vasopressina); hipotálamo lateral (núcleos laterais); hipotálamo médio (núcleos dorso-medial, ventro-medial e infundibular) e hipotálamo posterior ou mamilar (Randall, Burggren & French, 1998; Ojede & MacCann, 2000; Engler, Redei & Kola, 1999; Zerbe, 1999; Lopes, Pernicone, Scheithauer, Horvath, & Kovacs, 2007).

As células neurosecretoras hipotalâmicas sintetizam, além das hormonas referidas, várias outras hormonas reguladoras que controlam, estimulando ou inibindo, a produção e secreção hormonal da adenohipófise (Randall et al., 1998).

## 1.2 A Hipófise

A hipófise, considerada a “glândula mestre” por muitos autores, é uma pequena glândula que se localiza numa concavidade do osso esfenóide, conhecida como fossa hipofisária da sela turcica (Figura 1). Encontra-se ventralmente ao hipotálamo, ao qual se liga pelo infundíbulo, e estende-se caudalmente para o interior da fossa intercruiral (localizada na superfície ventral do tronco cerebral entre a ponte e os hemisférios cerebrais) (Getty, 1986; Randall et al., 1998; Meij, Voorhout, Van Den Ingh & Rijnberk, 2001).

**Figura 1:** Localização anatômica e divisão morfológica da hipófise (adaptado de Fossum, 2007).



O tamanho da hipófise no gato é semelhante ao do cão e segundo um estudo realizado, é relativamente constante, medindo entre 4,8 a 6 mm de comprimento, 4,2 a 5,8 mm de largura e 2,9 a 3,6 mm de altura e tendo um volume médio de 0,05 cm<sup>3</sup>. Não foi detectada

nenhuma correlação significativa entre o volume hipofisário e o peso do animal ou a sua idade (Wallack, Wisner, & Feldman, 2003).

Fisiologicamente, a glândula divide-se em duas porções bem diferentes, devido à sua origem embriológica distinta – a adenohipófise (também conhecida por hipófise anterior, embora se localize ventralmente na maioria dos cães e gatos) e a neurohipófise (denominada também por hipófise posterior). Estas são envolvidas por uma cápsula de tecido conjuntivo derivada da dura-máter encefálica e contínua com a rede de fibras reticulares que suportam as células do órgão (excepto no diafragma selar, onde a hipófise se liga ao hipotálamo pelo infundíbulo) (Getty, 1986; Herrtage, 1990; Guyton & Hall, 2000; Junqueira & Carneiro, 2008).

A neurohipófise diferencia-se embriologicamente a partir de uma evaginação ventral do pavimento do diencéfalo e é composta pelo infundíbulo e pelo lobo nervoso. É, maioritariamente, formada pelos axónios não mielinizados dos neurónios neurosecretores, cujos corpos celulares se encontram nos núcleos supra-ópticos e paraventriculares do hipotálamo. Apresenta ainda um tipo específico de célula neuroglial muito ramificada, denominado pituícito. Funcionalmente, trata-se de uma zona de "armazenamento" de hormonas produzidas pelo hipotálamo (ocitocina e vasopressina), apesar de muitas vezes acumular também secreções de origem hipofisária (Getty, 1986; Kaplan, 2000; Lopes, Pernicone, Scheithauer, Horvath & Kovacs, 2007; Junqueira & Carneiro, 2008).

A adenohipófise tem como origem embriológica a ectoderme, diferenciando-se a partir de uma evaginação dorsal do tecto da faringe, conhecida como Bolsa de Rathke, que origina as 3 porções que a constituem: a *pars distalis*, a *pars intermedia* e a *pars tuberalis*.

A *pars distalis*, consiste na porção ventral da adenohipófise, a *pars intermedia* é adjacente ao lobo nervoso e separa-se da *pars distalis* pela fenda hipofisária formada pelo lúmen remanescente da bolsa de Rathke, enquanto que a *pars tuberalis*, constitui a zona dorsal da adenohipófise que envolve o infundíbulo (Watson, 1990; Carney, & Lloyd, 2007).

A origem da adenohipófise a partir do epitélio faríngeo explica a natureza epitelial das suas células, que se organizam em cordões ou grupos, envolvidos por capilares sanguíneos. No entanto, cada uma das *pars* apresenta estrutura e função distintas (Guyton & Hall, 2000; Lopes et al., 2007).

Histologicamente, a *pars distalis* é constituída por cinco populações celulares endócrinas, nomeadamente, as células acidófilas somatotróficas, que sintetizam a hormona do crescimento (Growth Hormone - GH) e representam cerca de 50% das células desta zona; as células acidófilas lactotróficas, que sintetizam a prolactina; as células basófilas tireotróficas, que sintetizam a tirotrófina (Thyroid Stimulating Hormone – TSH); as células basófilas gonadotróficas, que sintetizam a hormona estimulante dos folículos (Follicle Stimulating Hormone – FSH) e a hormona luteinizante (Luteinizing Hormone – LH) e as células basófilas corticotróficas, que representam cerca de 10% das células



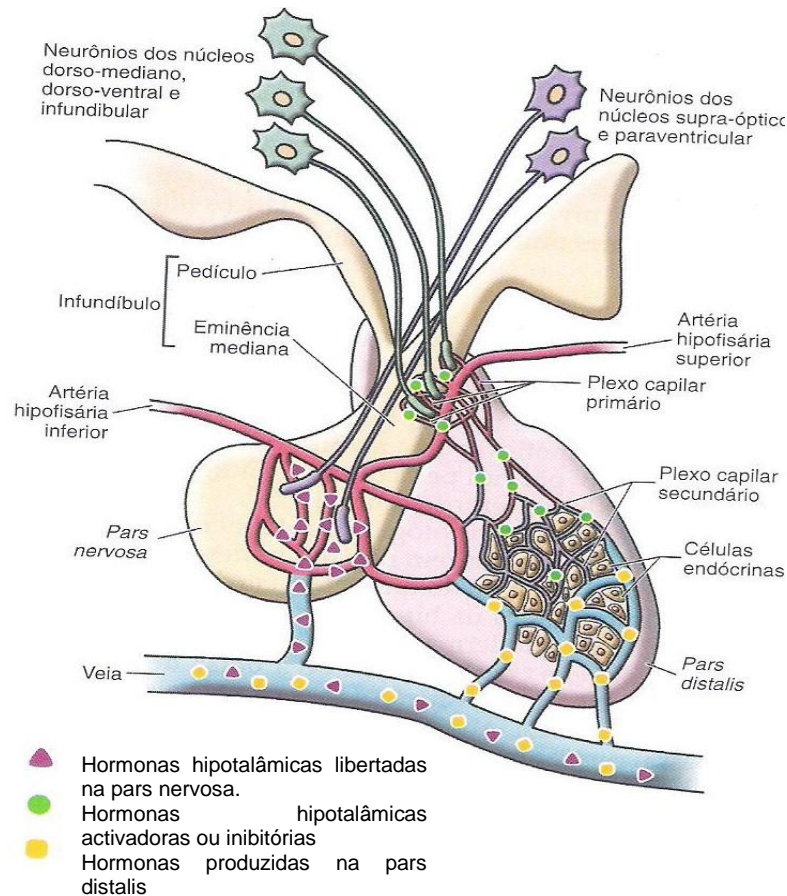
adenohipofisárias e sintetizam pré-opiomelanocortina (POMC), molécula precursora da hormona adrenocorticotrófica (Adrenocorticotropic Hormone – ACTH) (Cunningham, 1999). Existem ainda células indiferenciadas, células foliculares e alguns fibroblastos (Cunningham, 1999, Junqueira & Carneiro, 2008).

Na *pars intermedia* foram identificados dois tipos celulares principais: as células A, que constituem a população celular predominante (90%) e se classificam em células melanotrópicas, e as células B, que são semelhantes às células corticotróficas da *pars distalis*. Ambos os tipos celulares sintetizam POMC, mas o seu posterior processamento é distinto, resultando na secreção de diferentes moléculas. Assim, as células A secretam maioritariamente a hormona melanócito-estimulante tipo  $\alpha$  ( $\alpha$  - Melanocyte Stimulating Hormone -  $\alpha$ -MSH) e  $\beta$ -endorfinas ( $\beta$ -EP) enquanto que as células B, secretam ACTH e  $\beta$ -lipotrofina ( $\beta$ -LPH) (Rijnberk, 1996; Kaplan, 2000; Charondiere, 2003; Ricklin, 2005; Tranchard, 2007). No gato, a *pars intermedia* consiste numa zona de intensa actividade secretória e mais desenvolvida do que no cão, tendo sido evidenciado em vários estudos que esta zona desempenha um importante papel na resposta a situações de stress (Willemse, Vroom, Mol & Rijnberk, 1993; Kemppainen & Peterson, 1999; Charondiere, 2003; Javadi et al., 2004).

A *pars tuberalis* é constituída por uma população homogénea de células organizadas em cordões, que secretam gonadotropinas, embora de uma forma limitada (Junqueira & Carneiro, 2008).

Não existe nenhuma inervação funcional da adenohipófise pelo hipotálamo ou pelo lobo nervoso. No entanto, uma conexão humoral entre estes dois órgãos é providenciada pelo sistema porta hipofisário. Este tem origem no plexo capilar primário existente na eminência média que converge para formar as veias porta-hipofisárias, também denominadas longos vasos porta, que, por sua vez, promovem a ligação entre o plexo citado e o plexo capilar secundário existente na adenohipófise (*pars distalis*). Os capilares adenohipofisários, que transportam as hormonas secretadas pela adenohipófise, convergem em vasos que drenam para a circulação sanguínea venosa sistémica. Estes vasos colectam também o sangue dos capilares da neurohipófise. Além dos vasos anteriormente descritos, existem também os pequenos vasos porta que surgem na neurohipófise, passando pela *pars intermedia* até à *pars distalis*. Este sistema vascular permite que as hormonas hipotalâmicas reguladoras sejam transportadas, de forma rápida e concentrada, directamente para as células alvo adenohipofisárias e não diluídas na circulação sistémica (Figura 2) (Kaplan, 2000).

**Figura 2:** A secreção hormonal do eixo hipotalâmico-hipofisário e o sistema porta hipofisário (Junqueira & Carneiro, 2008).



### 1.3 As Glândulas Adrenais

A primeira descrição anômica das glândulas adrenais, também designadas por supra-renais, foi feita por Eustachius em 1563, sendo a sua importância funcional apenas demonstrada, em 1855 por Thomas Addison (Getty, 1986)

#### 1.3.1 Localização Anômica

As glândulas adrenais são dois órgãos ovóides e encapsulados, situados medialmente ao pólo cranial de cada rim, geralmente envoltos em gordura retroperitoneal (Figura 3). As dimensões destas glândulas na espécie felina, segundo dois estudos realizados envolvendo a sua medição ecográfica num total de 30 gatos adultos saudáveis, variaram entre 0,45 a 1,37 cm de comprimento e 0,29 a 0,53 cm de largura (Cartee & Finn-Bodner, 1993; Zimmer, Horauf & Reusch, 2000). No entanto, a avaliação de um maior número de gatos adultos e saudáveis é necessária de forma a confirmar e validar estes valores. Relativamente ao seu

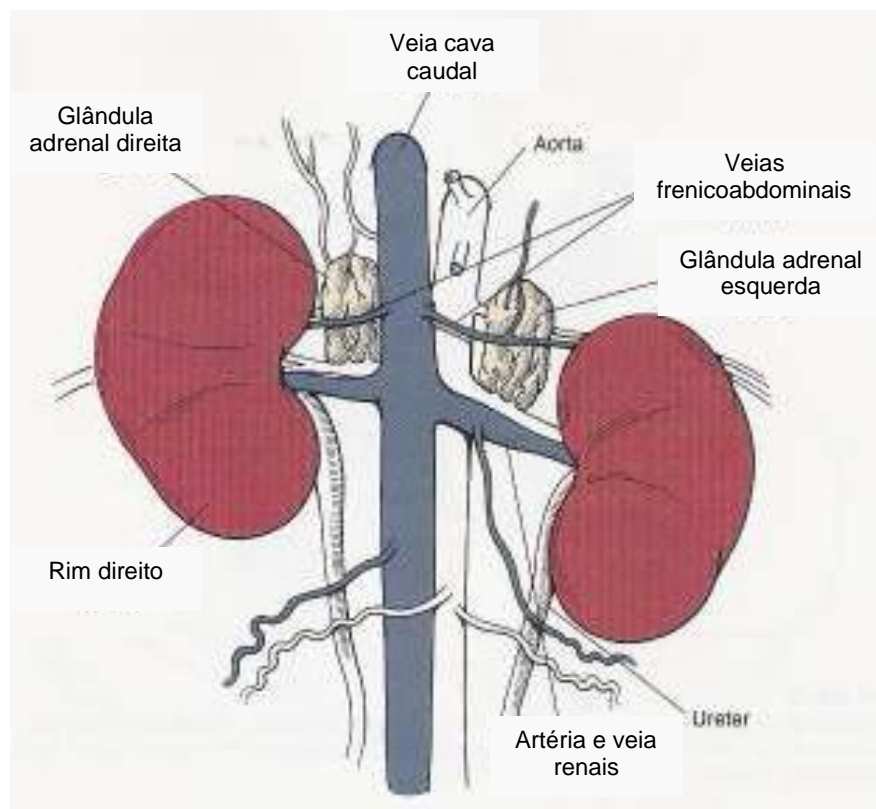
tamanho deve ainda ter-se em atenção que este varia em função de condições fisiológicas como a raça, a idade, o peso ou mesmo a gestação (Junqueira & Carneiro, 2008).

A glândula adrenal esquerda encontra-se craniomedialmente ao rim esquerdo, ao nível da 2ª vértebra lombar, surgindo lateralmente à artéria aorta (à qual está adjacente), cranialmente à artéria e à veia renal e caudalmente à artéria mesentérica cranial (Herrtage, 2004). A superfície dorsal relaciona-se com a parede abdominal, enquanto que a superfície ventral se relaciona com a extremidade esquerda do pâncreas (Getty, 1986).

A glândula adrenal direita posiciona-se ao nível da 13ª vértebra torácica, craniomedialmente ao hilo do rim direito e dorso-lateralmente à veia cava caudal, direccionando-se o seu ápice caudalmente (Getty, 1986; Herrtage, 2004).

Ao contrário do que se verifica no cão, no qual as glândulas adrenais esquerda e direita diferem relativamente ao tamanho e à forma, no que diz respeito ao gato, estas glândulas são idênticas, apresentando uma forma oval e alongada (forma de feijão) (Zimmer et al., 2000).

**Figura 3:** Localização anatómica das glândulas adrenais (adaptado de Fossum, 2007).



### 1.3.2 Estrutura Histológica e Função

As adrenais são estruturas pares, cada uma constituída por duas camadas funcional e morfologicamente distintas e de origem embriológica diferente. A camada periférica, de cor

amarelada, é denominada córtex, enquanto a camada central, acinzentada, denomina-se medula, encontrando-se as duas unidas topograficamente (Rijnberk, 1996; Junqueira & Carneiro, 2008).

A glândula é revestida por uma cápsula conjuntiva e o seu estroma é representado por uma intensa rede de fibras reticulares que suportam as células glandulares endócrinas (Junqueira & Carneiro, 2008).

O córtex adrenal apresenta origem embrionária mesoblástica e devido à diferente disposição e aspecto das suas células, encontra-se dividido em três zonas distintas de limites nem sempre bem definidos: a *zona glomerulosa*, a *zona fasciculada* e a *zona reticular*.

A *zona glomerulosa* localiza-se sob a cápsula conjuntiva e é uma zona celular estreita que se caracteriza pela presença de pequenos grupos globulosos ou arciformes de células, envolvidos por capilares (Figura 4). As células desta zona tendem a ser poliédricas e têm como principal função a síntese de mineralocorticoides, nomeadamente a aldosterona (Getty, 1986; Capen, 2007; Junqueira & Carneiro, 2008). Estas células são deficientes na enzima 17 $\alpha$ -hidroxilase não podendo, por isso, produzir cortisol ou androgéneos (Rijnberk, 1996; Feldman & Nelson, 2004a). A secreção de aldosterona é regulada pelo sistema renina-angiotensina e pela concentração plasmática de potássio, consistindo numa hormona reguladora do equilíbrio hidroelectrolítico (Randall et al., 1998; Feldman & Nelson, 2004a).

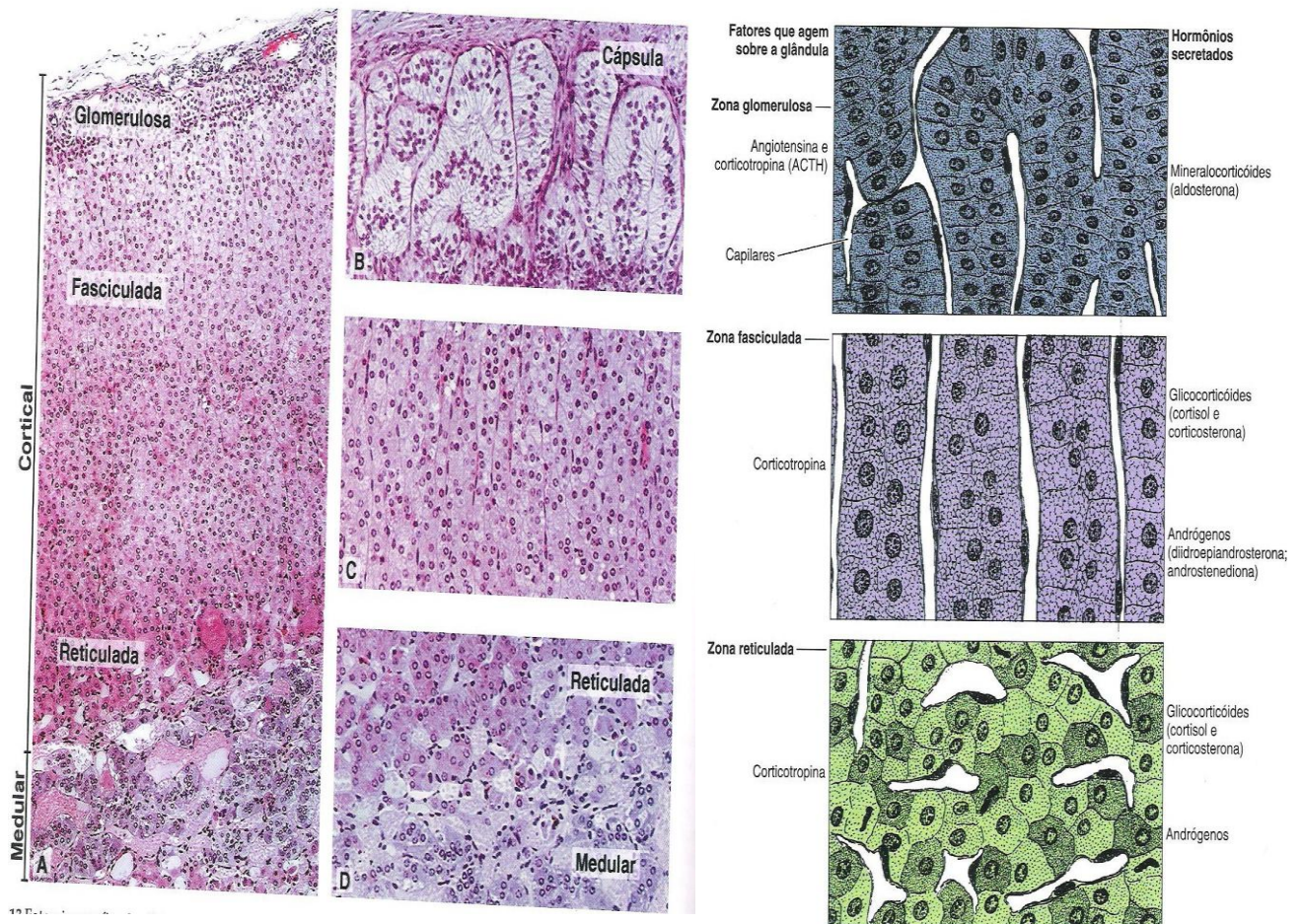
A *zona fasciculada* situa-se sob a *zona glomerulosa* e as suas células formam cordões alongados, paralelos entre si e perpendiculares à superfície do órgão, entre os quais se localizam capilares. As células que a constituem são relativamente grandes e poliédricas, tendo, a sua maioria (principalmente nos dois terços externos da zona), citoplasma com grande conteúdo lipídico (espongiócitos) (Figura 4) (Capen, 2007; Carney & Lloyd, 2007). Esta zona tem a função de produzir essencialmente glucocorticóides bem como androgénios em menor quantidade (Getty, 1986; Randall et al., 1998; Junqueira & Carneiro, 2008).

A *zona reticular* consiste na zona mais interna do córtex adrenal, encontrando-se em contacto com a medula. Histologicamente, caracteriza-se por células menores mas semelhantes àsquelas existentes na *zona fasciculada*, dispostas em cordões celulares irregulares, os quais formam anastomoses e lhe conferem o aspecto reticular característico (Figura 4). A presença de células de contornos irregulares, com núcleos picnóticos, sugere que a apoptose celular ocorre frequentemente nesta zona (Getty, 1986; Junqueira & Carneiro, 2008). À semelhança da *zona fasciculada*, a *zona reticular* sintetiza glucocorticóides e uma pequena quantidade de androgénios, sendo, por isso, consideradas como uma só unidade funcional por diversos autores (Rijnberk, 1996; Feldman & Nelson, 2004a; Capen, 2007). Ambas as zonas são reguladas primariamente pela hormona ACTH (Figura 5) (Feldman & Nelson, 2004a).



**Figura 4 (lado esquerdo):** A: Cortes histológicos das diferentes zonas da glândula adrenal. B: a cápsula, a zona *glomerulosa* e o início da zona *fasciculada*; C: a zona *fasciculada*; D: a zona *reticulada* e a medula da adrenal (Junqueira & Carneiro, 2008).

**Figura 5 (lado direito):** Diagrama esquemático da produção hormonal e das hormonas que actuam nas diferentes zonas da adrenal (Junqueira & Carneiro, 2008).



De origem embriológica neuro-ectodérmica, a medula da adrenal compreende cerca de 10 a 20% do volume total da glândula (Peterson, 2004). A medula adrenal é composta por células basófilas de forma poliédrica organizadas em cordões celulares envolvidos por capilares e vénulas (Randall et al., 1998; Junqueira & Carneiro, 2008). As suas células consistem em neurónios simpáticos pós-ganglionares modificados, produtores de catecolaminas (Peterson, 2004). Através de métodos histoquímicos, é possível distinguir dois tipos de células nesta zona com funções de síntese distintas, sintetizando umas células, adrenalina e as outras noradrenalina. Em gatos, a noradrenalina constitui cerca de 40% da secreção hormonal da medula adrenal (Prosser, 1973; Peterson, 2004).

A secreção destas duas hormonas faz-se independentemente uma da outra, o que sugere que ambas as células são inervadas por diferentes grupos de fibras nervosas (Junqueira & Carneiro, 2008).

Contrariamente ao córtex da adrenal, que não armazena os seus produtos, libertando-os de forma contínua na circulação sanguínea, a medula armazena adrenalina e noradrenalina, as quais são secretadas em grandes quantidades, quando a glândula é estimulada pela acção do sistema nervoso autónomo, existindo, no entanto, uma secreção contínua de pequenas quantidades destas catecolaminas (Junqueira & Carneiro, 2008).

---

## 2. O Eixo Hipotalâmico-Hipofisário-Adrenal: Função e Regulação Hormonal

---

### 2.1 A Hormona Libertadora da Corticotrofina

A CRH é um polipeptido de 41 aminoácidos, isolado pela primeira vez em 1981 por W. Vale e seus colaboradores (Engler et al., 1999). A sua síntese tem lugar na porção anterior do núcleo paraventricular (maioritariamente na divisão parvocelular) do hipotálamo anterior, segundo a maioria dos autores (Rijnberk, 1996; Charondiere, 2003; Herrtage, 2004; Ricklin, 2005; Tranchand, 2007), sendo, no entanto, referido por Engler et al. (1999), que esta se realiza na porção média do mesmo núcleo. São ainda encontrados neurónios secretores de CRH na restante área hipotalâmica, no telencéfalo e no tronco cerebral (Engler et al., 1999; Tranchand, 2007).

Após a sua síntese, a CRH é transportada ao longo dos axónios até à eminência média onde se acumula em grânulos existentes nas terminações nervosas, atingindo posteriormente a *pars distalis* da hipófise através da circulação porta-hipofisária. Uma vez na hipófise, a CRH interage com as células corticotróficas, induzindo um conjunto de reacções bioquímicas que levam à síntese e secreção de ACTH (Engler et al., 1999).

No entanto, a sua actividade não se exerce apenas na hipófise, tendo sido identificados dois tipos de receptores para a CRH: os de tipo 1 (hipófise) e os de tipo 2 (SNC e tecidos periféricos) de menor afinidade (Engler et al., 1999).

A CRH tem um tempo de semi-vida plasmático longo (aproximadamente de 60 minutos), existindo diferentes factores que interferem com a sua secreção pelo hipotálamo (Feldman & Nelson, 2004a).

Com base nos estudos realizados, a síntese de CRH é estimulada por moléculas como a acetilcolina, a noradrenalina, a adrenalina e a serotonina e é inibida por compostos como a dopamina, o ácido gama amino-butírico (GABA) e os antagonistas da serotonina (Engler et al., 1999, Ricklin, 2005; Tranchard, 2007). Em humanos, tanto a arginina como a vasopressina e a angiotensina II também potenciam a secreção de CRH e em parte, de ACTH, sendo a acção da ocitocina descrita como potenciadora da CRH por Engler et al. e inibidora por outros autores (Charondiere, 2003; Feldman & Nelson 2004a). Embora esta aparente discordância requeira investigação adicional, alguns estudos evidenciaram que a vasopressina exerce também um efeito inibidor do eixo HHA a nível hipotalâmico, indicando que o mesmo neuropéptido pode desenvolver efeitos contrários na regulação do eixo HHA (Engler et al., 1999). No entanto, o papel destas hormonas na regulação fisiológica da secreção da CRH ainda não foi consistentemente demonstrado em cães e gatos (Feldman & Nelson 2004a).

Existem ainda três mecanismos que influenciam a regulação da síntese de CRH:

1) Ritmo circadiano - a secreção de CRH é geralmente episódica e pulsátil, dependendo, o seu ritmo, das horas do dia, da espécie em causa e do indivíduo. No gato, pensa-se que a secreção é máxima nas horas que antecedem o anoitecer (dada a sua actividade principalmente nocturna), o que se reflecte invariavelmente nas concentrações de ACTH e de cortisol circulante. O ritmo circadiano da secreção da CRH é perpetuado pelo efeito recíproco dos níveis plasmáticos de cortisol através do mecanismo de retrocontrolo negativo longo. No entanto, um verdadeiro ritmo circadiano nas secreções de CRH, ACTH e cortisol tem sido difícil de estabelecer em cães e gatos (Herrtage, 1990; Charondiere, 2003; Feldman & Nelson, 2004a).

2) Mecanismo de retrocontrolo negativo pelos glucocorticoides e pela ACTH – existe um mecanismo de retrocontrolo negativo longo determinado pelos níveis de cortisol livre circulante, em que este tem um efeito directo sobre o hipotálamo, induzindo a diminuição da produção de CRH e sobre a adenohipófise, onde inibe a formação de ACTH, repercutindo-se na síntese de cortisol. Existe ainda um mecanismo de retrocontrolo negativo curto determinado pela concentração plasmática de ACTH, que influi sobre a secreção de CRH e logo da própria ACTH. No entanto, a regulação normal exercida pelos mecanismos de retrocontrolo negativo é inibida durante as situações de stress (Herrtage, 2004; Ricklin, 2005).

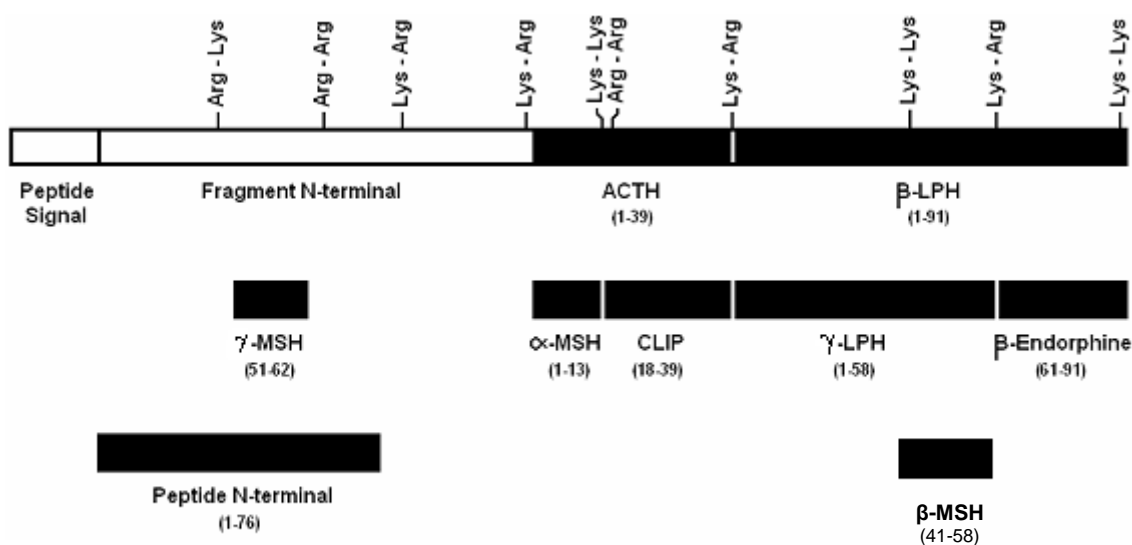
3) Situações de stress – stress físico (dor, traumatismo, exposição ao frio), químico (hipoxia, hipoglicémia aguda) e emocional (ruídos violentos e emoções fortes, manipulação física forçada) podem estimular a secreção de CRH por aumento dos níveis de catecolaminas (Willemse et al., 1993; Rijnberk, 1996; Charondiere, 2003; Feldman & Nelson, 2004a; Herrtage, 2004).

## 2.2 A Hormona Adrenocorticotrófica

A hormona adrenocorticotrófica ou corticotrofina é um polipéptido de cadeia única composto por 39 aminoácidos, com um peso molecular de 45 Da, processado a partir da molécula precursora, a POMC (Rijnberk, 1996; Feldman & Nelson, 2004a). Segundo a literatura, considera-se que a terminação do terminal amino da molécula ACTH (sequência 1-24) é responsável pela sua actividade biológica, variando os últimos 15 aminoácidos com a espécie (Gurtner, 2003; Feldman & Nelson, 2004b; Mazzuco, 2005; Tranchard, 2007).

A estrutura da ACTH apresenta uma forte homologia nos mamíferos e compreende dois fragmentos: o  $\alpha$ -MSH, que corresponde à sequência de aminoácidos 1-13, e o corticotropin-like intermediate lobe peptide (CLIP), correspondente à sequência 18-39 (Mazzuco, 2005; Tranchard, 2007) (Figura 6).

**Figura 6:** Esquema representativo da pré-opiomelanocortina (POMC): sítios preferenciais de clivagem indicados pelos pares de aminoácidos e os principais péptidos derivados da molécula (Ricklin, 2005).



### 2.2.1 Síntese de ACTH e a sua Regulação

A síntese de ACTH ocorre principalmente nas células corticotróficas da *pars distalis* e nas células B da *pars intermedia* da hipófise, existindo também evidência no gato, da sua síntese noutros locais, nomeadamente em alguns núcleos hipotalâmicos, em vários núcleos do tálamo, nos núcleos solitários do tronco cerebral e no fórnix (Rao, Hu, Prasad & Jayaraman, 1986; Coveñas et al., 1996; Rijnberk, 1996; Pesini, Pego-Reigosa, Tramu & Coveñas, 2004).

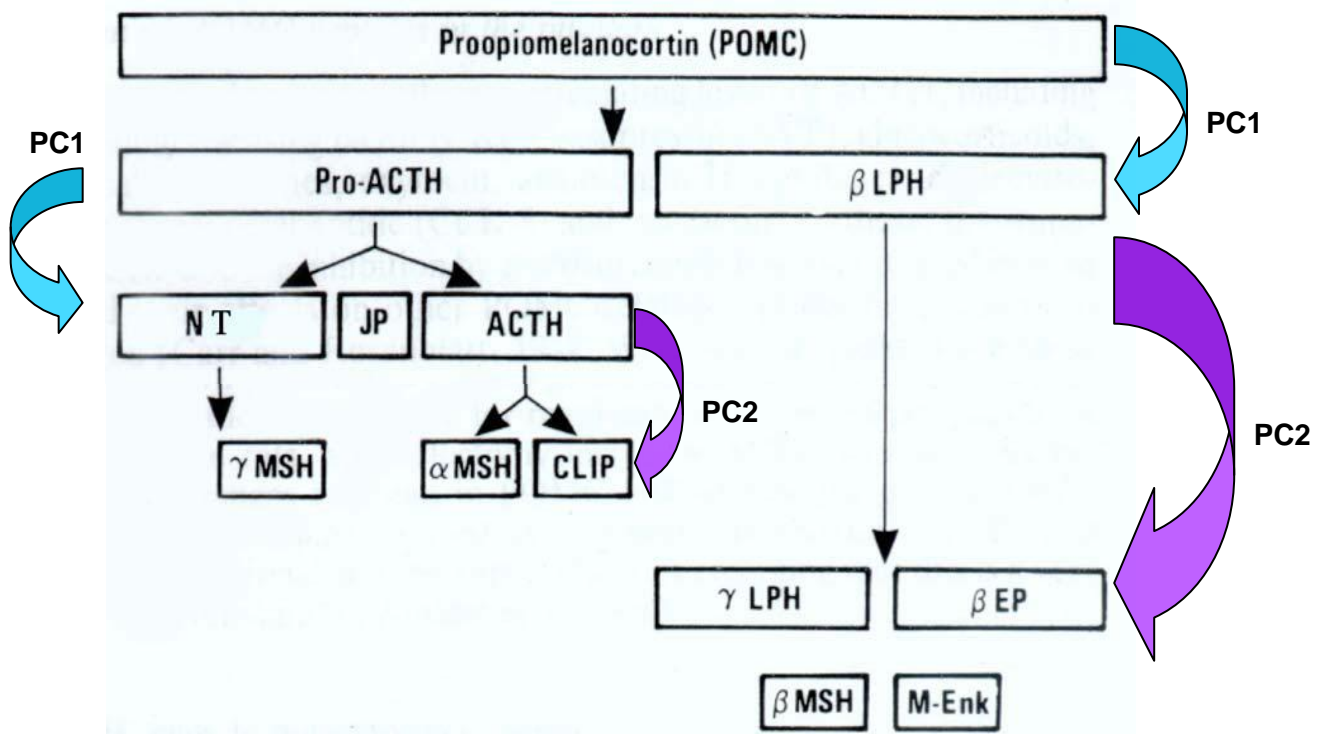


A ACTH, como foi anteriormente referido, resulta do processamento da molécula precursora, a POMC. Esta glicoproteína de 285 aminoácidos e de elevado peso molecular sofre um conjunto de transformações bioquímicas e clivagens proteolíticas que resultam na formação de uma extremidade amino-terminal, de um péptido de junção, de ACTH e de  $\beta$ -LPH, que por sua vez originam diferentes péptidos biologicamente activos cuja função e importância constituem uma área em desenvolvimento no estudo da endocrinologia (Matamoros, Gomez & Andaur, 2002; Charondiere, 2003; Feldman & Nelson, 2004a; Nicolas, 2004). As enzimas responsáveis por estas clivagens só recentemente foram identificadas, tratando-se de endoproteases denominadas pró-hormonas convertases do tipo 1 (PC1) e do tipo 2 (PC2) cuja distribuição tissular e especificidade de clivagem explicam a maturação diferencial da POMC na hipófise (Figura 7):

- Nas células da *pars distalis* e nas células B da *pars intermedia* apenas a enzima PC1 encontra-se presente, sendo a acção sobre a POMC limitada, formando-se apenas ACTH e  $\beta$ -LPH.
- Nas células A da *pars intermedia*, são encontradas ambas as endoproteases, a PC1 e a PC2, cuja acção conjugada conduz a um maior número de proteólises da POMC, originando  $\alpha$ -MSH e  $\beta$ -EP (Benjannet, Rondeau, Day, Chretien & Seidah, 1991; Nicolas, 2004).

A síntese e secreção de ACTH são reguladas por diversos factores estimuladores e inibidores que variam com a origem tissular da hormona.

**Figura 7:** Síntese de ACTH e outros péptidos biologicamente activos por clivagem da POMC (Nicolas, 2004).



Entre os factores activadores da síntese de ACTH, a CRH é, na maioria das espécies, considerada o mais potente, sendo o seu efeito potencializado por agonistas como a vasopressina, angiotensina II e adrenalina (Engler et al., 1999). A CRH exerce o seu efeito principalmente ao nível da *pars distalis* através da sua ligação a um receptor hipofisário específico que activa o complexo adenil-ciclase que, por sua vez, conduz ao aumento da síntese de adenosina monofosfato cíclico (AMPC) intracelular e do influxo de cálcio extracelular. Esta sucessão de reacções enzimáticas culmina com a expressão do gene codificante da POMC e sua clivagem em ACTH e nos péptidos já mencionados (Engler et al., 1999; Nicolas, 2004). Relativamente à sua acção na *pars intermedia* hipofisária, os estudos realizados revelam que a administração de CRH estimula a actividade secretória hormonal *in vitro* e *in vivo*, embora evidenciando uma baixa sensibilidade das células endócrinas à hormona. Estes dados em conjunto com a fraca irrigação da *pars intermedia* pelo sistema porta-hipofisário, sugerem que a CRH não tem um papel fisiológico importante na regulação da secreção das células desta zona.

A vasopressina, um nonapéptido hipotalâmico, constitui também um factor estimulador da síntese e secreção de ACTH, através da sua interacção com receptores hipofisários específicos (V1b) e da acção sinérgica com a CRH (favorece a síntese de AMPC) supracitada. Esta hormona desempenha ainda um papel essencial no aumento da concentração plasmática de cortisol em situações de stress (Engler et al., 1999).

Há ainda a referir a existência de várias citocinas, principalmente o LIF (*Leukemia Inhibitory Factor*) e as Interleucinas (IL) 1, 6 e 11, que actuam em sinergismo com a CRH e a nível da adenohipófise, favorecendo a expressão do gene POMC e a secreção de ACTH (Weber, Michil, Auernhammer & Engelhardt, 1997; Nicolas 2004).

Relativamente à secreção de ACTH pela *pars intermedia*, tem sido demonstrada uma regulação diferente e dissociada da actividade secretória da *pars distalis*, nomeadamente uma modulação positiva pela actividade  $\beta$ -adrenérgica bem como uma inibição pela actividade dopaminérgica.

No que se refere aos factores inibidores, os mecanismos de retrocontrolo negativo representam um importante interveniente na regulação inibitória da síntese e secreção da ACTH. Como foi anteriormente descrito, existem diversos mecanismos de retrocontrolo negativo, nomeadamente o retrocontrolo negativo longo, constituído pelos glucocorticóides, considerado o mais importante, e o retrocontrolo negativo curto, exercido pela própria ACTH, sendo ambas as respostas influenciadas e maioritariamente sobrepostas pelos episódios de stress (Herrtage, 1998; Herrtage, 2004; Ricklin, 2005).

Ainda neste âmbito, estudos recentes sugerem a existência de uma regulação inibitória da síntese da POMC e consequentemente da ACTH, mediada por um factor hipotalâmico, o CRIF (*Corticotropin Release-inhibitory Factor*), pondo em causa a tradicional ideia de que o hipotálamo desenvolvia apenas uma acção estimuladora na síntese de ACTH. Têm sido

descritas como possíveis responsáveis por esta acção, moléculas como a somatostatina, a dopamina, o factor natriurético atrial, a pré-pró-hormona libertadora da tireotrofina (178-199) (Thyrotropin Releasing Hormone - TRH) e o GABA, não reunindo nenhuma delas todas as características de um CRIF fisiológico (Engler et al., 1999).

Em situações de stress a secreção de ACTH é modulada pelo SNC via neurotransmissores, que promovem a libertação de hormonas hipofisiotrópicas tais como a CRH e a vasopressina (Willemse et al., 1993; Rijnberk, 1996; Charondiere, 2003; Feldman & Nelson, 2004a; Peterson, 2004). De acordo com diversos estudos, considera-se ainda que no gato, contrariamente ao cão, a resposta do eixo HHA em condições de stress está associada a uma actividade secretória intensa da *pars intermedia* bem como da *pars distalis* (Willemse et al., 1993; Kemppainen et al., 1999; Javadi, Slingerland et al., 2004).

Importa ainda mencionar o carácter pulsátil da secreção ACTH que tal como referido para a CRH, denota flutuações na sua concentração plasmática dependentes do ritmo de actividade diurno, da espécie e do indivíduo, embora ainda não tenha sido consistentemente demonstrado um ritmo circadiano nos carnívoros domésticos (Kemppainen & Sartin, 1986; Kemppainen & Peterson, 1996; Charondiere, 2003; Feldman & Nelson 2004a; Peterson, 2004).

### **2.2.2 Acção Fisiológica da ACTH**

A ACTH tem como principal função a estimulação da síntese e da secreção de glucocorticóides, principalmente de cortisol, e de androgénios pelas *zonas fasciculada e reticulada* do córtex adrenal. Esta participa ainda na regulação da secreção de mineralocorticóides, nomeadamente a aldosterona, pela *zona glomerulosa*, sendo as suas propriedades estimulatórias na secreção de mineralocorticóides e de hormonas sexuais menos específicas e intensas. A ACTH constitui também um factor de crescimento das células adrenais, tendo um efeito trófico sobre o parênquima do córtex das glândulas adrenais, através do aumento da síntese proteica (Gurtner, 2003; Feldman & Nelson 2004a; Nicolas 2004; Mazzuco, 2005; Tranchard, 2007).

A ACTH participa também na lipólise do tecido adiposo e na degradação das proteínas musculares em aminoácidos. O seu papel no metabolismo do tecido adiposo exerce-se devido à presença da sequência 4 -10 da molécula, sendo a sua acção lipolítica 2 a 3 vezes menor do que a sua acção activadora da esteroidogénese (Tranchard, 2007).

## **2.3 Os Glucocorticóides**

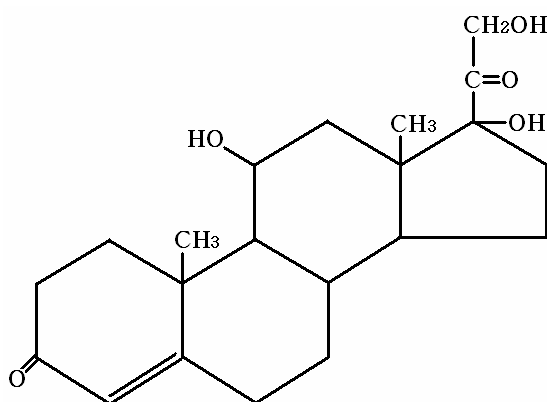
Os glucocorticóides são hormonas esteróides, das quais o cortisol é o principal representante na maioria dos mamíferos, nomeadamente no gato. Em conjunto com os

mineralocorticóides, dos quais o principal é a aldosterona, e com as hormonas sexuais, constituem o grupo dos corticosteróides. Estas hormonas são sintetizadas pelo córtex adrenal, resultando da conversão da molécula de colesterol por um processo reaccional de hidroxilações sucessivas, e apresentam estruturas químicas similares caracterizadas por um núcleo ciclopentanofenantreno (Guyton & Hall, 2000; Ricklin, 2005).

### 2.3.1 Estrutura

Os glucocorticóides exibem características estruturais específicas que os caracterizam, nomeadamente: um anel de 21 átomos de carbono (C), duas funções cetónicas (C3 e C20), duas funções hidroxilo (C11 e C17), uma função álcool primária em C21 e uma ligação dupla entre C4 e C5. O cortisol distingue-se estruturalmente da aldosterona pela localização de um grupo hidroxilo (em C17 no cortisol e em C18 na aldosterona) (Figura 8). Ambas as hormonas referidas distinguem-se ainda das hormonas sexuais pela presença de uma hidroxilação em C11 (Rijnberk, 1996; Cunningham, 1999; Guyton & Hall, 2000; Strina, 2004).

**Figura 8:** Estrutura molecular do cortisol (adaptado de Ricklin, 2005).

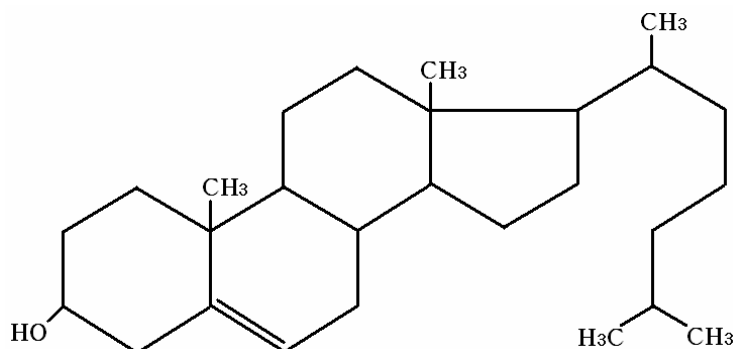


### 2.3.2 Biossíntese

A síntese de glucocorticóides pelo córtex adrenal compreende diversas etapas e numerosos metabolitos intermediários. O substrato inicial para a síntese de cortisol que ocorre na *zona reticular* e na *zona fasciculada*, consiste na molécula de colesterol (Figura 9), sintetizada a partir do Acetil-coenzima A e cujas fontes são numerosas. O colesterol provém, assim, do colesterol circulante, dos ésteres de colesterol libertados pelo metabolismo das lipoproteínas de baixa-densidade (Low Density Lipoproteins - LDL) (representam 80% do colesterol utilizado na esteroidogénese), dos ésteres de colesterol originados a partir da activação e

acção da enzima colesterol-esterase sob os depósitos endógenos bem como da sua biossíntese *de novo* a partir da molécula de acetato (Cunningham, 1999; Guyton & Hall, 2000; Matamoros et al., 2002; Strina, 2004).

**Figura 9:** Estrutura molecular do colesterol (adaptado de Ricklin, 2005).

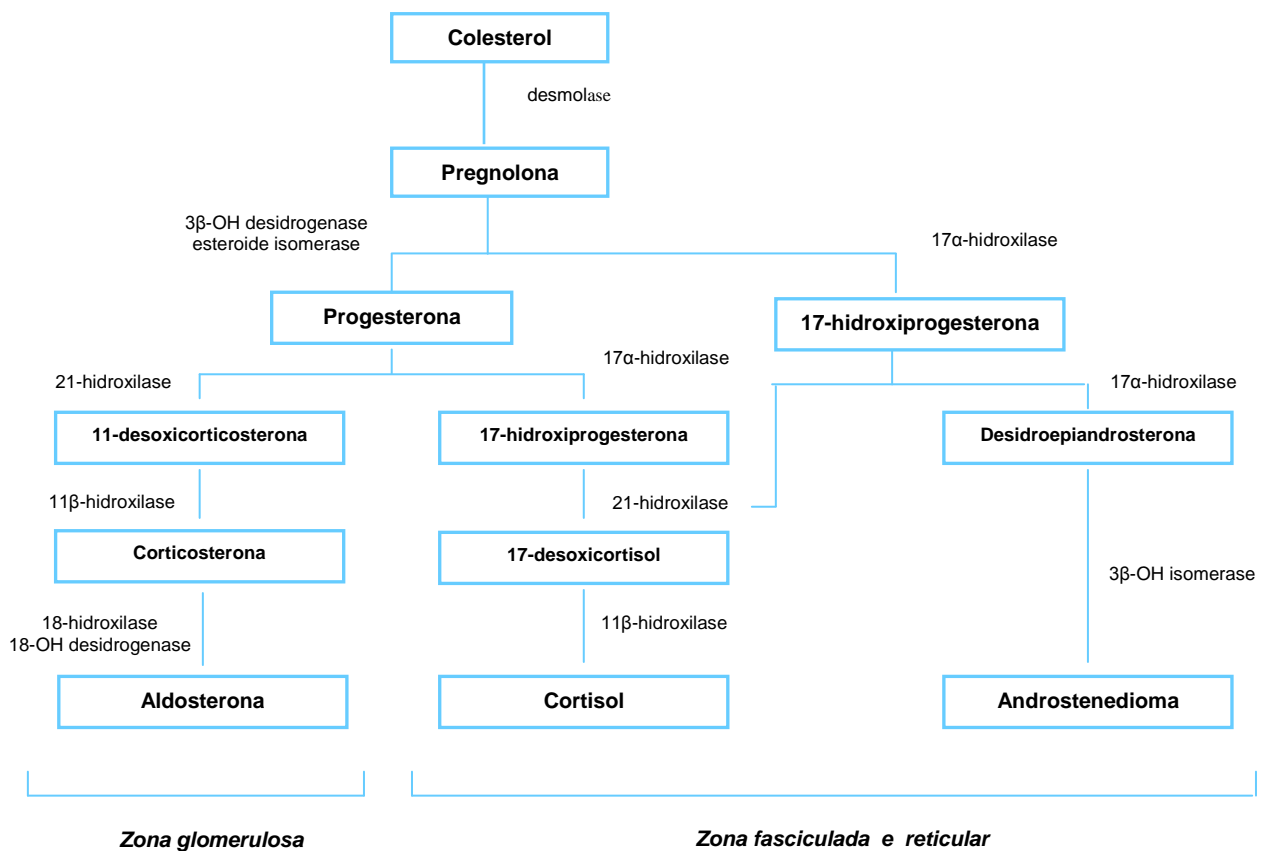


A síntese e secreção de cortisol são estimuladas pela ACTH, que interage com um receptor membranar específico acoplado a uma proteína G, resultando na activação da adenil-ciclase que promove um aumento do conteúdo celular de AMPc. Este último favorece a translocação do colesterol para a matriz mitocondrial interna, onde ocorre a sua conversão em pregnenolona, etapa limitante do processo de esteroidogénese adrenal. Esta reacção é catalisada por enzimas de síntese, como por exemplo a desmolase, pertencentes à superfamília do Citocromo P450 e envolve duas hidroxilações, seguidas da clivagem da cadeia lateral do colesterol. Depois da síntese, a pregnenolona é transportada para o exterior da mitocondria, onde se processa um conjunto de outras etapas chave envolvendo diferentes enzimas, que permitem diferenciar as famílias hormonais. No caso do cortisol, a sua síntese procede via 17 $\alpha$ -hidroxilação no retículo endoplasmático liso (Figura 10) (Guyton & Hall, 2000; Feldman & Nelson, 2004a; Strina, 2004; Mazzuco, 2005).

Uma vez sintetizados, os glucocorticoides são rapidamente secretados, uma vez que a capacidade de armazenamento do córtex adrenal é mínimo (Strina, 2004).

É ainda de referir que a resposta celular à estimulação pela ACTH pode ser dividida em 2 tempos: numa primeira fase, denominada também por fase rápida (de segundos a minutos), ocorre um aumento imediato do aporte de substrato (colesterol) às enzimas de síntese mediado pela fosfoproteína StAR (Steroidogenic Acute Regulatory Protein), enquanto que numa segunda fase, designada por lenta (de horas a dias), verifica-se um aumento da transcrição dos genes codificantes das enzimas envolvidas bem como da sua capacidade de síntese de hormonas esteróides (Strina, 2004; Mazzuco, 2005).

**Figura 10:** Mecanismo global da biossíntese das principais hormonas esteróides pelas diferentes zonas do córtex adrenal (adaptado de Reusch, 2005).



### 2.3.3 Regulação da Síntese do Cortisol

A secreção de cortisol pelas adrenais, como já foi referido, é estimulada pela ACTH, cuja secreção pela hipófise é, por sua vez, induzida pela CRH, produzida pelo hipotálamo, traduzindo-se assim o eixo HHA. Diversos mecanismos estão envolvidos na homeostasia deste eixo biológico, nomeadamente, o ritmo circadiano, os mecanismos de retrocontrolo negativo bem como a resposta fisiológica às situações de stress (Guyton & Hall, 2000; Feldman & Nelson, 2004a; Strina, 2004)

A síntese e secreção fisiológica de cortisol refletem o ritmo pulsátil e episódico verificado pela ACTH e pela CRH, que no gato, como já foi mencionado, parece evidenciar picos de secreção mais elevados ao anoitecer, embora um verdadeiro ritmo circadiano só tenha sido demonstrado na secreção de  $\alpha$ -MSH pela *pars intermedia* (Kemppainen & Peterson, 1996; Peterson, 2004).

Os glucocorticóides exercem um retrocontrolo negativo sobre a sua síntese que se efectua a diversos níveis do eixo HHA e representa o mecanismo principal na manutenção da taxa de glucocorticóides circulantes dentro dos limites normais. Este é denominado retrocontrolo

longo e como já anteriormente mencionado, resulta na inibição da secreção hipotalâmica de CRH e da síntese hipofisária de ACTH. Relativamente ao efeito inibitório sobre a secreção de CRH, pensa-se que possa ser modulado por receptores específicos para corticosteróides, isto é do tipo I para mineralocorticóides e do tipo II para glucocorticóides, localizados principalmente no hipocampo, sendo a actividade do eixo HHA aparentemente controlada por estas duas classes de receptores. Ao nível da adenohipófise, os glucocorticóides inibem a expressão da POMC nas células corticotróficas bem como a secreção de ACTH, através da activação dos receptores tipo II (Rijnberk, 1996; Feldman & Nelson, 2004a; Strina, 2004; Mazzuco, 2005).

Existe ainda um mecanismo de retrocontrolo negativo curto determinado pela concentração plasmática de ACTH, que influencia a secreção de CRH e consequentemente da própria ACTH, repercutindo-se assim na síntese de cortisol (Peterson, 2004; Strina 2004; Ricklin, 2005).

As situações de stress podem sobrepor-se aos mecanismos de retrocontrolo negativo, desencadeando-se uma elevação marcada nas concentrações plasmáticas de cortisol, mediada por catecolaminas. Esta intensa secreção é de uma importância vital para a manutenção da homeostase do organismo em situações de stress. Desenvolvem-se então, diversas interacções complexas entre o eixo HHA e o sistema imunitário que poderão representar um elemento fundamental na resposta fisiológica ao stress (Strina, 2004; Mazzuco, 2005).

#### **2.3.4 Metabolismo do cortisol**

Após a sua síntese, o cortisol é libertado na corrente sanguínea, encontrando-se, aproximadamente 90 a 95%, ligado de forma reversível a proteínas plasmáticas, circulando o restante na sua forma livre, biologicamente activa. As proteínas plasmáticas, sintetizadas a nível hepático, são essencialmente representadas pela transcortina (ou Corticosteroid-Binding-Globulin – CBG) e pela albumina, mas as suas propriedades diferem. A CBG é uma  $\alpha$ -1-glicoproteína com elevada afinidade para o cortisol, transportando 75% do mesmo mas cuja capacidade de ligação total é relativamente reduzida. Esta transporta também corticosterona e progestagénios. A albumina, por sua vez, apresenta uma afinidade menor para o cortisol mas uma capacidade de ligação relativamente elevada. Assim, quando a concentração plasmática de cortisol aumenta, a capacidade de ligação das proteínas plasmáticas à hormona fica saturada conduzindo a um aumento da sua fracção livre. A CBG condiciona, desta forma, a biodisponibilidade de cortisol, minimizando as consequências de variações bruscas na sua secreção (Cunningham, 1999; Guyton & Hall, 2000; Strina, 2004). O elevado grau de ligação a proteínas plasmáticas diminui a eliminação do cortisol plasmático, conferindo-lhe um tempo de semi-vida relativamente longo de 60 a 90 minutos (Guyton & Hall, 2000).

O catabolismo do cortisol envolve a redução de ligações duplas e configurações cetónicas bem como uma glucuronoconjugação e uma sulfuronoconjugação, que se processam principalmente a nível hepático mas também a nível renal (Cunnigham, 1999; Strina, 2004). As moléculas obtidas são hidrossolúveis e biologicamente inactivas sendo, cerca de 25%, eliminados pela bília e fezes e os restantes 75% eliminados pela urina (Guyton & Hall, 2000). Uma pequena parte desta hormona é ainda directamente excretada na urina sem transformação (2%), sob a forma de cortisol urinário livre (Joubert, 2002).

### **2.3.5 Acções Fisiológicas dos Glucocorticóides**

Os glucocorticóides intervêm no metabolismo da maior parte dos tecidos do organismo e conferem capacidade de adaptação a alterações hemodinâmicas e metabólicas, bem como a alterações do ambiente externo (Guyton & Hall, 2000).

É ainda de referir que as funções hormonais não são independentes, sobrepondo-se. De facto, o cortisol, além da sua actividade glucocorticóide dominante, possui também efeitos mineralocorticóides, de potência reduzida, enquanto a aldosterona evidencia alguma actividade glucocorticóide (Cunnigham, 1999).

#### **2.3.5.1 Mecanismo de Acção na Célula**

Os glucocorticóides, na medida em que são hormonas esteróides, exercem os seus efeitos, interagindo com os receptores intracelulares e regulando a expressão genómica nas células alvo. Por ser uma hormona lipofílica, o cortisol atravessa as membranas celulares por difusão simples, interagindo em seguida com receptores proteicos citoplasmáticos específicos. Forma-se, então, um complexo activo hormona-receptor que atinge o núcleo celular onde se fixa ao ADN (Ácido Desoxirribonucleico) activo (a sequências reguladoras específicas denominadas *Glucocorticoid-Response Elements*), induzindo ou suprimindo a transcrição de ARN (Ácido Ribonucleico) mensageiro e consequentemente modulando a síntese de proteínas e os seus efeitos fisiológicos (Rijnberk, 1996; Guyton & Hall, 2000; Strina, 2004; Ricklin, 2005). Desta forma, os efeitos metabólicos do cortisol não são imediatos, requerendo 45 a 60 minutos para a modulação da síntese proteica e várias horas a dias para o desenvolvimento completo dos seus efeitos fisiológicos a nível sistémico (Guyton & Hall, 2000).

É de referir que a presença de receptores citoplasmáticos específicos para glucocorticóides não se verifica em todos os tecidos do organismo, sofrendo, os tecidos desprovidos de receptores, uma acção indirecta pelos glucocorticóides. Nos tecidos que possuem os referidos receptores, foram identificados pelo menos três tipos de receptores, estando cada um associado a efeitos fisiológicos diferentes. Os efeitos diferem ainda em função da concentração e distribuição dos vários tipos de receptores celulares, o que varia também consoante a espécie. No mesmo tecido, o número de receptores pode ainda flutuar



dependendo do ciclo celular, da idade do indivíduo e da influência de compostos endógenos e exógenos (Strina, 2004). Assim, a evidência de uma maior resistência aos esteróides no gato do que no cão, a nível dos efeitos imunossupressivos, poderá ser explicada por um menor número de receptores celulares para os glucocorticóides nesta espécie (Courouge, 2004; Strina, 2004; Lowe, Campbell, Barger, Schaeffer & Borst, 2008).

Os glucocorticóides podem ainda interagir e modificar as propriedades membranares, devido à sua hidrofobicidade (Charondiere, 2003).

#### 2.3.5.2 Mecanismos de Acção no Organismo

A nível orgânico, o cortisol, bem como todos os glucocorticóides, exerce múltiplas acções, desempenhando uma importante função no metabolismo glucídico, lípidico e proteico (Figura 11), e na preservação do funcionamento normal do sistema cardiovascular, intervindo de forma significativa na hematopoiese, na manutenção da integridade vascular e na pressão e volume sanguíneos (Cunnigham, 1999; Guyton & Hall, 2000).

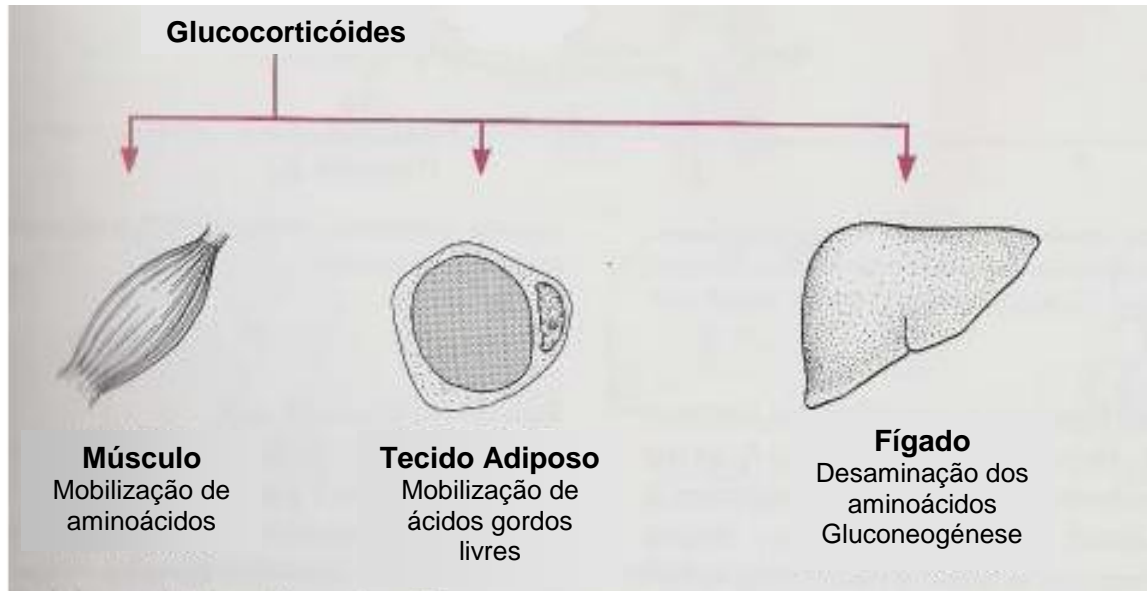
No metabolismo glucídico, o cortisol actua a nível hepático, estimulando a cadeia enzimática interveniente na gluconeogénese, o que lhe confere uma acção hiperglicemiante. Por outro lado, o cortisol atenua a captação e metabolismo celular de glucose nos tecidos periféricos, devido à redução da expressão dos transportadores membranários da mesma e à diminuição da afinidade dos receptores para a insulina. A articulação destes efeitos promove um aumento das reservas hepáticas de glicogénio bem como um aumento da glicémia que, a médio prazo, poderá ocasionar insulino-resistência e um consequente acréscimo da insulinémia (Cunnigham, 1999; Guyton & Hall, 2000; Charondiere, 2003).

Quanto ao metabolismo proteico, os glucocorticóides promovem um catabolismo proteico em todas as células do organismo (principalmente nos tecidos músculo-esquelético e ósseo), excepto no fígado, no cérebro e no coração, favorecendo a mobilização de aminoácidos nos tecidos periféricos, de forma, a serem utilizados na gluconeogénese hepática (Cunnigham, 1999; Guyton & Hall, 2000; Charondiere, 2003). Os glucocorticóides inibem ainda a síntese proteica periférica na sua maioria, favorecendo, no entanto, a síntese de algumas proteínas específicas tais como proteínas hepáticas, proteínas plasmáticas e catecolaminas (Guyton & Hall, 2000).

Relativamente ao metabolismo lípidico, a acção dos glucocorticóides compreende o aumento da lipólise e a redução da lipogénese nos tecidos periféricos e a libertação de ácidos gordos livres e glicerol na circulação sistémica. Estes são utilizados, preferencialmente, como fonte de energia (limitando a utilização de glucose), constituindo também substratos da gluconeogénese. A nível hepático, os glucocorticóides favorecem a síntese de triglicéridos, o que combinado com a capacidade evidenciada em estimular o apetite (provável aumento da fome por inibição dos centros da saciedade), conduz a uma

redistribuição do tecido adiposo no organismo (Guyton & Hall, 2000; Charondiere, 2003; Strina, 2004).

**Figura 11:** Funções dos glucocorticóides no organismo (adaptado de Randall et al., 1998).



Os glucocorticóides desempenham ainda uma importante acção anti-inflamatória, intervindo em diversas etapas do processo inflamatório. O seu mecanismo de acção compreende essencialmente a estabilização das membranas lisossomais e a inibição da produção dos mediadores inflamatórios bem como o aumento do seu catabolismo, o que se reflecte na atenuação das fases vascular e celular da inflamação. Em doses elevadas, estes podem ainda apresentar um efeito imunossupressor, cujo mecanismo de base não pode ser dissociado da acção anti-inflamatória. Os glucocorticóides promovem, assim, a integridade das membranas celulares e a estabilidade das membranas lisossomais intracelulares, limitando a desgranulação celular, e apresentam propriedades vasculares, promovendo a vasoconstrição e diminuindo a permeabilidade vascular, através da inibição dos mediadores inflamatórios. Por outro lado, estas hormonas reduzem as capacidades de migração e diapedese dos macrófagos e dos monócitos no local de inflamação, actuam ao nível da fracção C3 do complemento e das imunoglobulinas e minimizam a síntese de substâncias promotoras da fagocitose, o que contribui para a redução da adesão fagocitária. Inibem também a proliferação linfocitária, promovendo um efeito anti-mitótico directo, ao reduzirem a actividade da ARN-polimerase e da ATPase. Têm ainda um efeito sobre as funções pró-inflamatórias das células através da inibição da activação da fosfolipase A2 (mediada pela síntese de lipocortina), o que se traduz na redução da produção de mediadores lipídicos da inflamação (prostaglandinas, leucotrienos e tromboxano), de radicais livres e de numerosas

citoquinas pró-inflamatórias (como a IL1, a IL2 e o Factor de Necrose Tumoral  $\alpha$  – TNF $\alpha$ ), desactivando os circuitos de amplificação da reacção inflamatória (Chrousos, 1995; Joubert, 2002; Charondiere, 2003).

Os glucocorticóides apresentam ainda uma acção anti-alérgica. Nos casos de hipersensibilidade imediata, estas hormonas inibem a descarboxilação de histidina e consequentemente a formação de histamina, interferem com a fixação da Imunoglobulina E aos receptores dos polimorfonucleares basófilos ou dos mastócitos e reduzem a desgranulação mastocitária e a síntese de anticorpos circulantes (Ricklin, 2005).

---

### **3. Avaliação da Função do Eixo Hipofisário-Adrenal**

---

Dada a pluralidade das alterações, quer de hiperfunção quer de hipofunção do eixo HA bem como da intensidade variável das mesmas, a sua avaliação correcta é por vezes complexa. Os testes funcionais bem como a imagiologia constituem ferramentas de extrema importância na abordagem diagnóstica destas alterações.

<b>3.1 Exploração Funcional Específica</b>
--

O constante desenvolvimento na área da endocrinologia, nomeadamente em relação à função do eixo HHA, tem conduzido à criação e exploração de vários testes funcionais direccionados para o diagnóstico de hiperadrenocorticismismo ou hipoadrenocorticismismo, bem como para a diferenciação etiológica destas endocrinopatias. Relativamente à avaliação da função deste eixo biológico nas afecções não adrenais, é necessária maior investigação no que diz respeito a testes funcionais específicos para as mesmas bem como em relação à sensibilidade e especificidade dos testes já existentes.

Além dos testes funcionais actualmente recomendados e usualmente utilizados na abordagem à actividade hipofisária-adrenal nos processos patológicos não adrenais, na literatura, são ainda referidos outros testes que poderiam ser utilizados na avaliação do eixo HA, através da associação de testes de diagnóstico de hiperadrenocorticismismo e de hipoadrenocorticismismo, nomeadamente a combinação do teste de supressão pela dexametasona com o teste de estimulação pela ACTH.

### 3.1.1 Doseamento da Concentração Plasmática Basal de Cortisol

A determinação do cortisol plasmático basal, de forma individual, não tem virtualmente valor diagnóstico relativamente à confirmação de hipofunção bem como de hiperfunção do eixo HA, o que se explica pelo facto de, tanto a ACTH como o cortisol, serem secretados episodicamente ao longo do dia e se traduz numa curva de picos e vales representativa da concentração plasmática de cortisol. Estas flutuações contam, assim, para o intervalo de referência da concentração plasmática de cortisol, que no gato é usualmente de 0,5 a 5,0 µg/dl (Gurtner, 2003; Feldman & Nelson, 2004b; Feldman & Nelson, 2004c). Num estudo recente, concluiu-se que no cão, a probabilidade dos animais apresentarem hipofunção a nível do eixo HA é muito baixa, caso apresentem valores de cortisol basal normais ou superiores ao normal (Lennon et al., 2007). Contrariamente, para valores de cortisol inferiores a 2 µg/dL pouca ou nenhuma informação respeitante à glândula adrenal pode ser obtida, uma vez que, no caso de hiperfunção, os valores de cortisol basal podem estar normais ou serem superiores ou inferiores ao intervalo de referência. É, por isso, sempre necessária a realização de outros testes funcionais (Feldman & Nelson, 2004b). A cortisolémia pode também estar elevada devido ao stress provocado pela manipulação e pela punção venosa (Willemse, 2003; Tranchard, 2007).

O sangue recolhido para o doseamento de cortisol deve ser colocado num tubo seco ou contendo, como anticoagulante, heparina. O sangue deve ser centrifugado o mais cedo possível após a obtenção da amostra, com o soro ou plasma separado colocado num tubo plástico seco. As concentrações plasmáticas de cortisol são relativamente estáveis à temperatura ambiente, no entanto, é recomendado que todas as amostras sejam enviadas para o laboratório refrigeradas ou congeladas, visto desta forma, a sua estabilidade persistir por longos períodos (meses e talvez anos). Um mínimo de 1 ml de soro ou plasma de cada amostra de sangue deve ser enviado para o laboratório, no entanto, as recomendações individuais de cada laboratório devem ser sempre seguidas (Smith & Feldman, 1987; Zerbe, 2000a; Feldman & Nelson, 2004b).

### 3.1.2 Teste de Estimulação pela ACTH

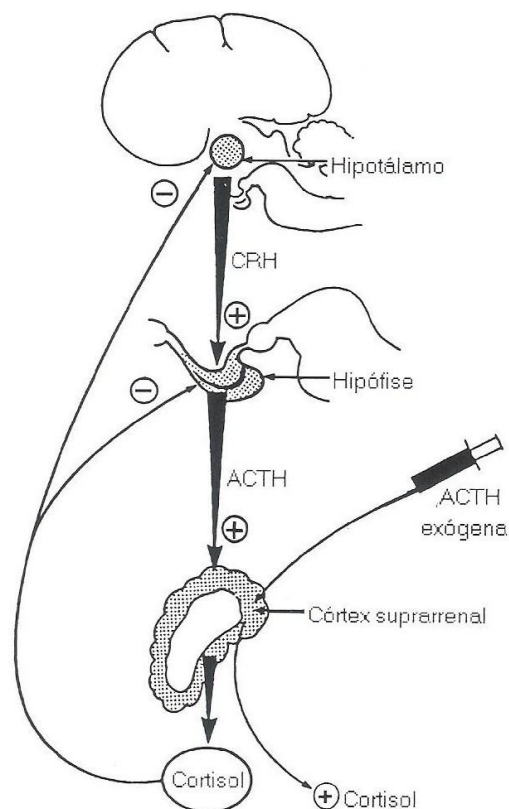
O teste de estimulação pela ACTH tem como objectivo, avaliar a capacidade de resposta das glândulas adrenais, a qual está relacionada com o estado de actividade e o tamanho das mesmas (Gurtner, 2003; Feldman & Nelson, 2004b; Feldman & Nelson, 2004c). Assim, em caso de hiperfunção do eixo HA, a resposta ao teste de ACTH é superior à fisiológica, sendo inferior nos casos de hipofunção do mesmo (Gurtner, 2003; Peterson, 2007).

O teste de estimulação pela ACTH é considerado o teste de eleição no diagnóstico de Hipoadrenocorticismo (hipossecreção hormonal pelo córtex adrenal) em carnívoros domésticos bem como na abordagem diagnóstica ao Hiperadrenocorticismo (hipersecreção de cortisol pelo córtex adrenal) em canídeos, consistindo no único teste que permite

distinguir o Hiperadrenocorticismismo Espontâneo (de origem adrenal, hipofisária ou paraneoplásica) e o Hiperadrenocorticismismo latrogénico (resultante da administração crónica e/ou excessiva de glucocorticóides) e que possibilita o acompanhamento da eficácia e da resposta à terapêutica do hiperadrenocorticismismo (Zerbe, 2000a; Feldman & Nelson, 2004a; Redden, 2005). Na espécie felina, o valor deste teste no diagnóstico de hiperadrenocorticismismo tem sido alvo de alguma controvérsia (Feldman & Nelson, 2004b). Em animais com doença não-adrenal, o teste de estimulação pela ACTH, tem sido o mais recomendado e utilizado na avaliação da função do eixo biológico referido (Greco, Behrend, Brown, Rosychuk & Groman, 1998; Zerbe, 2000a; Feldman & Nelson, 2004a; Cohen, Ward, Prins, Jones & Venkatesh, 2006).

O teste consiste na administração de um análogo sintético da ACTH em dose alta, de forma a estimular a secreção máxima de cortisol endógeno pelo córtex adrenal (Figura 12). A ACTH exógena deve ser mais potente que os efeitos causados por situações de stress tais como viajar, ambiente hospitalar, manipulação e punção venosa. Com a estimulação exógena máxima do córtex, estas variáveis de elevada importância são eliminadas, não interferindo com os resultados (Dickstein et al., 1991; Feldman & Nelson, 2004a; Feldman & Nelson, 2004b).

**Figura 12:** Diagrama referente aos princípios gerais do teste de estimulação pela ACTH (adaptado de Tranchard, 2007).



Têm sido publicados numerosos protocolos para o teste de estimulação pela ACTH. O teste é rápido, económico e facilmente realizável, podendo começar a qualquer altura do dia e sem preparação do animal (Dickstein et al., 1991; Zerbe, 2000; Feldman & Nelson, 2004a). Na Europa, na prática corrente, o análogo de síntese mais utilizado é o tetracosactide (Synacthen®), enquanto nos Estados Unidos da América utilizam o cosyntropin. O estudo realizado comparando as respostas aos dois análogos sintéticos em gatos, não demonstrou nenhuma diferença significativa (Peterson & Nelson, 1992). Relativamente à dose de ACTH sintética a utilizar, foram vários os estudos efectuados onde se comparam diferentes doses, nomeadamente 125 µg e 250 µg por gato (Smith & Feldman, 1987), 1,25 µg, 12,5 µg e 125 µg por gato (Peterson & Kemppainen, 1993) e 125 µg e 250 µg por gato obeso (Schoeman, Evans, Childs & Herrtage, 2000), os quais evidenciaram picos de cortisolémia comparáveis nas diferentes doses, tendo diferido apenas na duração da resposta à ACTH, que variou em função do aumento da dose. Desta forma, embora as doses menores atinjam a estimulação adrenal máxima, a dose de 125 µg de ACTH sintética por gato é comumente aceite, dado as primeiras promoverem picos de secreção de reduzida duração, o que reduz o momento indicado para a colheita de sangue, tal como foi documentado em cães (Kerl, Peterson, Wallace, Melián & Kemppainen, 1999). Segundo a maioria dos autores, a colheita de sangue após a estimulação pela ACTH no gato, deve ser efectuada entre os 30 e os 90 minutos após a injeção, independentemente da via de administração. No entanto, um estudo realizado comparando as vias de administração intra-muscular (IM) e endovenosa (IV) da molécula demonstrou que a última via induz picos na concentração plasmática de cortisol em resposta à ACTH significativamente superiores e por isso mais tardios, observados entre os 60 e os 180 minutos após a estimulação, enquanto que a administração via IM conduz a picos de cortisol entre os 30 e os 90 minutos (Peterson & Kemppainen, 1992a).

Assim, o protocolo mais utilizado em gatos é o seguinte (Charondiere, 2003; Feldman & Nelson, 2004b):

**T0** – 1ª colheita de sangue + 1 ampola de 0,125 mg de tetracosactide/ gato (IV ou IM)

**T0 + 1h** – 2ª colheita de sangue

Pode ainda ser realizada uma colheita de sangue a **T0+30min**.

Em animais com hipovolémia ou com desidratação evidente, deve restabelecer-se o equilíbrio hídrico e só posteriormente realizar o teste da ACTH, na medida em que, nestes casos, a absorção estará comprometida se a administração de ACTH for efectuada por via IM (Feldman & Nelson, 2004a).

O intervalo de valores normais deve ser estabelecido por cada laboratório. A maioria dos laboratórios, no entanto, tem uma razoável semelhança nos resultados da concentração plasmática de cortisol, uma vez que a maioria usam ensaios e protocolos similares. Em

gatos, o intervalo de referência normal para a concentração basal de cortisol é 0,5 a 5,0 µg/dl, e a concentração normal de cortisol após estimulação é tipicamente de 4,5 a 15 µg/dl (adaptado de Feldman & Nelson, 2004b). Os valores entre 15 e 19 µg/dl são considerados valores limite, e valores de 19 µg/dl ou superiores são consistentes com o diagnóstico de hiperfunção adrenal, enquanto valores inferiores a 1 µg/dL são diagnósticos de hipoadrenocorticism e os valores entre 1 e 2 µg/dL representam função adrenal diminuída. Valores de cortisolémia pós-estimulação pela ACTH inferiores a 5,0 µg/dl podem ainda representar hiperadrenocorticism iatrogénico, embora esta afecção seja extremamente rara na espécie felina (Duesberg & Peterson, 1997; Feldman & Nelson, 2004b; Feldman & Nelson 2004c).

No que se refere à sensibilidade e à especificidade do teste, estas não estão documentadas na espécie felina. Contudo, segundo Feldman e Nelson (2004b), o seu uso não é aconselhado na abordagem diagnóstica ao hiperadrenocorticism em gatos dado a provável falta de sensibilidade e a questionável especificidade do teste nesta espécie. Contrariamente, em canídeos, embora os valores diverjam com os diferentes autores, este é considerado sensível (85%) e relativamente específico (60-90%) no que diz respeito ao hiperadrenocorticism (Peterson, 2007). Relativamente à hipofunção adrenal em cães, o teste apresenta uma sensibilidade e uma especificidade bastante elevadas de cerca de 95% (Peterson, Kintzer & Kass, 1996).

### **3.1.3 Rácio Cortisol/Creatinina Urinários**

O Rácio Cortisol/Creatinina Urinários (RCCU) é usualmente utilizado como teste diagnóstico de hiperadrenocorticism, e tem como princípio o facto da excreção urinária de cortisol variar em função da sua concentração plasmática e da quantidade de urina produzida, doseando-se, simultaneamente, a creatinina urinária, de forma, a reduzir o factor de diluição. Com efeito, este rácio é proporcional ao cortisol livre plasmático.

A colheita de urina para a medição do RCCU, é realizada de manhã, durante 2 dias consecutivos e à mesma hora (8 h), sendo preferencialmente realizada pelo proprietário do animal de forma a minimizar os sinais de stress susceptíveis de ocorrerem (Cauvin et al., 2003; Feldman & Nelson, 2004a). As urinas são colocadas num tubo seco, idealmente com antiséptico, o qual deverá ser refrigerado a 4°C e enviado imediatamente para o laboratório, onde se procede ao doseamento (Feldman & Nelson, 2004a, 2004b; Gurtner, 2003).

O RCCU é um exame de realização fácil e pouco dispendioso, não invasivo e que apresenta uma boa sensibilidade (85-95%), mas uma fraca especificidade (20-30%) nos estudos realizados em cães com hiperadrenocorticism, sendo necessária investigação adicional relativamente a felídeos domésticos, uma vez que não existem dados sobre a sensibilidade e a especificidade deste teste nesta espécie, bem como um intervalo de referência validado (Zerbe, 2000; Feldman & Nelson, 2004a; Feldman & Nelson, 2004b), embora se pense que

sejam similares aos verificados em cães. Os valores de referência variam, assim, consoante o laboratório e o autor em causa, sendo referidos como valores normais, o intervalo entre  $8,0$  a  $42,0 \times 10^{-6}$  (De Lange, Galac, Trip & Kooistra, 2004).

Segundo estudos recentes, o RCCU poderá ser o teste mais sensível (76% e 79%) para o aumento na secreção de cortisol verificado em afecções não adrenais, sendo que foram obtidos valores superiores de RCCU em cães com doença não adrenal severa relativamente a cães com doença não adrenal leve e moderada (Smiley & Peterson, 1993; Kaplan, Peterson & Kemppainen, 1995; Gieger, Feldman, Wallack & Dank, 2003). Desta forma, o RCCU poderá ser utilizado na avaliação da função do eixo HA aquando de afecção não adrenal, associado a um teste que permita identificar os casos de hipofunção do eixo, nomeadamente o teste de estimulação pela ACTH.

### **3.1.4 Doseamento de ACTH Endógena Basal**

A ACTH é uma hormona de grande importância na regulação fisiológica do eixo HHA e o seu doseamento permite diferenciar a etiologia da hipofunção bem como da hiperfunção do mesmo.

Apesar da secreção hipofisária de ACTH no gato ser caracterizada por episódios de secreção mais frequentes e de maior amplitude ao anoitecer comparativamente ao decréscimo na frequência e amplitude da secreção verificado durante o dia, o protocolo utilizado para a colheita de sangue para doseamento de ACTH endógena nesta espécie, é baseado na literatura existente sobre o homem e o cão. Assim, de forma a padronizar a altura do dia e a diminuir os factores de stress, as amostras de sangue devem ser recolhidas entre as 8 e as 9 h da manhã, idealmente após o animal ser hospitalizado durante a noite. Caso o teste de estimulação pela ACTH tenha sido realizado anteriormente, é recomendado esperar 24h antes de recolher sangue para fazer o doseamento de ACTH endógena basal (Feldman & Nelson, 2004a; Feldman & Nelson, 2004b).

O sangue recolhido deve ser manipulado rapidamente, devido à ACTH ser uma molécula muito instável, de catabolização fácil e com um tempo de semi-vida de apenas alguns minutos. A colheita de sangue para o seu doseamento bem como a sua separação e armazenamento, deverão ser feitos em tubos de silicone, secos, heparinizados ou com ácido etileno diaminotetracético (EDTA), dada a sua capacidade de adsorção ao vidro. É aconselhado realizar uma centrifugação a frio imediatamente após a colheita e idealmente congelar ( $-20^{\circ}\text{C}$ ) ou refrigerar ( $+4^{\circ}\text{C}$ ) o soro ou plasma até se proceder ao doseamento. Poderá ainda ser adicionado um inibidor de proteases sanguíneas, a aprotinina, com o objectivo de inibir a degradação de ACTH, minimizando os efeitos da temperatura ambiente e do contacto com o vidro (Zerbe, 2000b; Feldman & Nelson, 2004a).

Os valores usuais da concentração plasmática de ACTH são variáveis segundo o laboratório e a metodologia utilizada, no entanto, segundo a literatura, estimam-se como valores



normais no gato, aqueles compreendidos entre 10 e 60 pg/ml (Smith & Feldman, 1987; Feldman & Nelson, 2004b).

Relativamente aos valores aceites como diagnósticos de alteração da concentração plasmática de ACTH no gato, estes são definidos pelos valores aceites para o cão (Feldman & Nelson, 2004b). Assim, na hiperfunção de origem hipofisária e na hipofunção de origem adrenal, a concentração plasmática de ACTH é igual ou superior, e superior a 45 pg/ml, respectivamente, enquanto na hiperfunção adrenal e na hipofunção hipofisária, pelo contrário, a concentração é inferior a 20 pg/ml (Zerbe, 2000b; Feldman & Nelson, 2004b, 2004c; Gunn-Moore, 2005).

Na hiperfunção de origem adrenal, o cortisol é produzido em excesso, de uma forma quase autónoma da estimulação pela ACTH, registando-se uma diminuição das concentrações de CRH, ACTH e dos seus precursores devido ao retrocontrolo negativo induzido pelo cortisol, enquanto que no caso da hiperfunção hipófiso-dependente, a síntese de ACTH e dos seus precursores se encontra elevada (Herrtage, 2004). Por outro lado, na hipofunção de origem adrenal, a ACTH é produzida em excesso, devido à falta de retrocontrolo negativo induzido pelo cortisol, que se encontra diminuído, enquanto na hipofunção hipofisária, ocorre uma deficiente síntese e secreção de ACTH (Stonehewer & Tasker, 2001; Feldman & Nelson, 2004c; Reusch, 2005).

A concentração plasmática de ACTH é, ainda, susceptível de sofrer alterações induzidas por numerosos processos patológicos já referidos, tais como o stress, afecções agudas e crónicas, certos anestésicos entre outros, o que aliado à sua grande instabilidade e às particulares características de colheita limita o seu uso na prática clínica (Feldman & Nelson, 2004a; Peterson, 2007).

### **3.1.5 Teste de Estimulação pela CRH**

O teste de estimulação pela CRH baseia-se na capacidade desta hormona para estimular a secreção hipofisária de ACTH e consequentemente a secreção de cortisol pelo córtex adrenal. Assim, após administração de CRH, procede-se ao doseamento de ACTH endógena e de cortisol e à consequente interpretação dos resultados. No entanto, este teste é pouco prático, ligeiramente dispendioso e requer cuidados especiais, nomeadamente na quantificação da ACTH, razões pelas quais este teste não é utilizado na prática corrente (Feldman & Nelson, 2004a; Peterson, 2007).

## 3.2 Imagiologia

O recurso à imagiologia revela-se de extrema importância, aquando da necessidade de avaliar a função do eixo HA.

### 3.2.1 Radiologia

As glândulas adrenais não são identificáveis radiograficamente, devido às suas reduzidas dimensões e à opacidade de tecido mole, excepto se, se encontrarem bastante aumentadas (tamanho mínimo de 2 cm) ou mineralizadas. As calcificações desta glândula no gato são pouco frequentes e, na maioria das vezes, são desprovidas de significado clínico em gatos geriátricos (Nyland, Mattoon, Herrgesell & Wisner, 2001; Feldman & Nelson, 2004b). O aumento destas glândulas pode ainda provocar uma deslocação dos órgãos adjacentes, o que poderá ser observado radiograficamente. O aumento da adrenal esquerda é mais facilmente observado do que o existente na adrenal direita devido ao facto desta estar mais próxima do fígado, o que por vezes dificulta a correcta identificação do seu aumento (Thrall, 2002).

Esta técnica imagiológica embora de fácil e rápida realização e de baixo custo, tem sido substituída, na maioria dos casos, pela ecografia abdominal (Feldman & Nelson, 2004a).

### 3.2.2 Ecografia

Em adição aos testes funcionais, o exame ecográfico das glândulas adrenais é uma ferramenta importante na avaliação da sua actividade, permitindo por vezes diferenciar a etiologia de determinada alteração do eixo HA (Barthez, Nyland & Feldman, 1995; Zimmer et al., 2000; Faily, 2002).

Até recentemente, o exame ecográfico das glândulas adrenais no gato, raramente era alvo de discussão ou análise, reflectindo o facto da doença adrenal ser pouco frequente nesta espécie bem como a aparente dificuldade de execução deste procedimento (Feldman & Nelson, 2004b, 2004c).

No entanto, num estudo realizado em 20 gatos saudáveis, procedeu-se à avaliação ecográfica das glândulas adrenais, onde todas as glândulas foram visualizadas e medidas, sem anestesia ou sedação dos animais (Zimmer et al., 2000). Constatou-se, então, que em gatos sãos, ambas as glândulas adrenais, esquerda e direita, são virtualmente idênticas quanto ao tamanho (0,45 a 1,37 cm de comprimento e 0,29 a 0,53 cm de largura) e à forma, apresentando uma forma oval a forma de feijão. Na generalidade, estes autores consideraram estes órgãos hipoecogénicos comparativamente aos tecidos adjacentes, tendo constatado também uma maior dificuldade técnica na visualização da glândula adrenal direita do que na glândula contralateral. Em 6 dos 20 gatos foi ainda possível

distinguir 2 zonas nas glândulas, nomeadamente uma zona central hiperecogénica comparativamente à zona externa, menos ecogénica. Os autores verificaram também que estes órgãos não diferem com o sexo do animal e que, comparativamente a cães sãos, a sua visualização ecográfica é mais fácil em gatos saudáveis.

A glândula adrenal esquerda encontra-se cranial à artéria renal e ventro-lateral à aorta, constituindo estas estruturas conjuntamente com o pólo cranial do rim esquerdo pontos de referência na localização ecográfica da glândula. O eixo maior da adrenal esquerda não é paralelo aos eixos do rim e da aorta, existindo a necessidade de a sonda ecográfica sofrer uma rotação no sentido horário bem como no sentido inverso, de forma, a maximizar a medição do comprimento. O eixo menor é obtido através de uma rotação da sonda de 90° a partir da imagem do eixo maior (Nyland et al., 2001).

A glândula adrenal direita localiza-se em posição cranial, sub-costal e adjacente às ansas intestinais, caudalmente à veia porta hepática e lateral a dorso-lateral à veia cava caudal. Esta será melhor visualizada colocando a sonda ecográfica caudalmente à última costela direita ou no 11º ou 12º espaço intercostal. O eixo maior é obtido pela rotação da sonda no sentido horário e no sentido inverso, enquanto o eixo menor se obtém através de uma rotação de 90° aquando da visualização do eixo maior (Nyland et al., 2001).

Devido ao facto do comprimento das adrenais ser proporcional ao peso corporal, aceita-se como medida standard o diâmetro da glândula, uma vez que este é constante e é menos susceptível a variações posicionais e a variações de corte ecográfico. Embora seja necessário maior investigação, considera-se que o diâmetro normal das adrenais no gato é de  $4,3 \pm 0,3$  mm (Nyland et al., 2001). Existem ainda parâmetros importantes como a forma, a ecogenecidade, as relações com as estruturas adjacentes, o envolvimento vascular e as dimensões da glândula adrenal contra-lateral (Nyland et al., 2001; Faily, 2002; Ricklin, 2005).

Relativamente às alterações verificadas aquando do exame ecográfico das glândulas adrenais, estas devem ser idealmente relacionadas com os resultados da exploração endócrina. No entanto, algumas considerações individuais podem ser retiradas. No caso de uma hipertrofia bilateral e simétrica das glândulas, com contornos regulares e com ecogenecidade homogénea, esta é fortemente indicativa de hiperfunção adrenal hipofiso-dependente, embora um aumento unilateral ou bilateral assimétrico bem como a presença de nódulos adrenais também tenham sido identificados nestes casos. Os nódulos adrenais poderão também ser suspeitos de metastização adrenal. Quando uma das glândulas adrenais se encontra hipertrofiada, estando a glândula contra-lateral normal ou atrofiada, existe uma forte suspeita da presença de hiperfunção de origem adrenal, devido a um tumor da adrenal ou, mais raramente, a metastização adrenal (Nyland et al., 2001; Faily, 2002; Feldman & Nelson, 2004a; Feldman & Nelson; 2004b). Por outro lado, a atrofia de ambas as glândulas adrenais está normalmente presente nos casos de hipofunção do eixo HA (Nyland

et al., 2001; Faily, 2002; Feldman & Nelson, 2004a). No entanto, o limite inferior do tamanho da adrenal não foi ainda estabelecido, e estudos adicionais num maior número de gatos são necessários para validar os valores actualmente aceites ( $4,3 \pm 0,3$  mm de diâmetro) (Nyland et al., 2001).

É de salientar que as principais limitações da técnica ecográfica consistem na subjectividade da interpretação dos resultados pelo técnico bem como na sua experiência e na qualidade do material utilizado (Feldman & Nelson, 2004a).

### **3.2.3 Tomografia Axial Computorizada e Ressonância Magnética**

A Tomografia Axial Computorizada (TAC) é uma técnica imagiológica médica assistida por computador que permite obter imagens de cortes anatómicos nos quais os diferentes tecidos apresentam densidades variáveis em função da absorção diferencial de raios X, eliminando a sobreposição de estruturas (Charondiere, 2003). Assim, esta técnica, permite visualizar o hipotálamo, a hipófise e as glândulas adrenais, avaliando o seu tamanho, forma e envolvimento com os tecidos adjacentes (Tyson, et al., 2005). A sensibilidade da TAC pode melhorar com a injeção IV de contraste iodado, o qual permite uma melhor visualização de certas estruturas como os vasos sanguíneos, os rins, os ureteres, bem como, pôr em evidência a existência de metástases. No entanto, a TAC não permite a diferenciação entre processos neoplásicos benignos e malignos (Charondiere, 2003; Gurtner, 2003).

A Ressonância Magnética (RM), por seu lado, permite obter imagens em corte orientadas em qualquer plano e de qualidade superior às da TAC, consistindo na melhor técnica imagiológica existente actualmente para o estudo dos órgãos intra-cranianos (Charondiere, 2003; Feldman & Nelson, 2004b; Herrtage, 2004). Esta técnica de imagiologia faculta uma excelente diferenciação tissular, inclusivamente entre tecidos normais e tecidos lesados, não sendo, as imagens obtidas, afectadas pela barreira óssea (Bertoy et al., 1995). Este método permite assim uma visualização mais detalhada da hipófise bem como das glândulas adrenais, facilitando a avaliação do seu tamanho, forma e estrutura bem como a detecção de um eventual envolvimento vascular. A injeção IV de um produto de contraste paramagnético permite melhorar a observação das diferentes estruturas bem como das possíveis lesões existentes. Relativamente à TAC, esta técnica têm ainda a vantagem de não utilizar radiação ionizante (Charondiere, 2003).

Contudo, dado a necessidade de equipamento especializado e de anestesia dos animais, o elevado custo e a difícil acessibilidade destas técnicas, a RM mais do que a TAC, não são utilizadas com frequência na prática corrente (Gurtner, 2003; Feldman & Nelson, 2004b).

---

## **4. A Função do Eixo Hipofisário-Adrenal na Doença Oncológica**

---

A ocorrência de um processo patológico promove uma panóplia de efeitos metabólicos no organismo (Semple, 1986). Neste âmbito, a activação do eixo HHA, evidenciada pelo aumento de secreção de ACTH e de cortisol, constitui uma parte vital na resposta fisiológica ao stress, sendo um mediador essencial na manutenção da homeostase do organismo e na adaptação ao estado de doença, nomeadamente na resposta às elevadas exigências metabólicas (Munk, Guyre & Holbrook, 1984; Span et al., 1992; Kaplan et al., 1995; Martin et al., 2008). No entanto, as interações entre o sistema endócrino e o sistema imunitário são extremamente complexas e ainda não totalmente compreendidas (Everaus, Lehtmaa, Luik & Kbdar, 1992). Desta forma, embora vários estudos tenham sido realizados no ser humano e em algumas espécies animais, os efeitos de doença não adrenal na função hipofisária-adrenocortical, nomeadamente de doença oncológica, não estão totalmente elucidados. Com efeito, existe uma ausência de consenso sobre o que constitui uma função adrenocortical normal no processo patológico assim como quais os testes funcionais indicados na abordagem diagnóstica à disfunção adrenal nestas situações (Dimopoulou et al., 2002). Esta é assim, uma área em desenvolvimento no âmbito da endocrinologia médica e principalmente veterinária.

### **4.1 Alteração do Eixo Hipofisário-Adrenal na Doença Não-Adrenal**

A actividade do eixo HHA na doença não adrenal tem sido amplamente estudada no ser humano, e em menor grau no cão e no gato, tendo-se obtido, no entanto, resultados divergentes e alguns pouco conclusivos, nas diferentes espécies.

Com efeito, no homem, vários estudos têm documentado que existe uma hipersecreção hipofisária de ACTH assim como um aumento das concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH, em indivíduos com processos patológicos variados (Munk et al., 1984; Drucker & Shandling, 1985; Vermes, Beishuizen, Hampsink & Haanen, 1995; Dimopoulou et al., 2002). Estas alterações têm sido correlacionadas positivamente com os índices de morbilidade e mortalidade por alguns autores (Bishop & Ross, 1971; Journey, Cockrell, Lindberg, Lamiell & Wade, 1987; Span et al., 1992).

No entanto, embora as hipercortisolémias basais e pós-estimulação pela ACTH observadas em doentes não adrenais estejam bem documentadas, diversos estudos têm demonstrado o desenvolvimento de hipofunção adrenal em 3 a 31% dos doentes estudados (Prittie, Barton,

Peterson, Kemppainen, Herr & Fox, 2002; de Jong, Beishuizen, Spijkstra, Girbes & Groeneveld, 2007).

Relativamente à ocorrência de hiperfunção adrenocortical, esta foi demonstrada em doentes com afecções diversas de carácter agudo, tais como sepsis, traumatismos múltiplos (Vermes et al., 1995), choque séptico (Schein, Sprung, Marcial, Napolitano & Chernow, 1990) e afecções agudas indiferenciadas (Span et al., 1992) bem como em doentes com afecção crónica, nomeadamente *diabetes mellitus* (Chan, Chan, Inouye, Shum & Matthews, 2002; Chan, Inouye, Riddell, Vranic & Matthews, 2003), insuficiência renal crónica (Rosman et al., 1987) e doença oncológica (Bishop & Ross, 1971; Everaus, 1992; Everaus Everaus, Lehtmaa, Luik & Kódar, 1992; Everaus, Hein & Zilmer, 1993; Everaus, Luik & Lehtmaa, 1997; Jenkins et al., 1999; Sirachainan & Kalemkerian, 2002).

A hiperactividade do eixo HHA registada nas diferentes afecções, verifica-se a diversos níveis do mesmo. Registaram-se, assim, na maioria dos estudos realizados, aumentos a nível da secreção hipotalâmica (CRH) e/ou hipofisária (ACTH) e consequente hipersecreção adrenocortical, tendo sido também verificada hiperplasia das glândulas adrenais em alguns casos. Num estudo realizado no homem, em indivíduos com sepsis e com traumatismos múltiplos (Vermes et al., 1995), identificou-se a existência de hiperfunção adrenocortical, verificando-se hipercortisolémia basal associada a perda de correlação com a concentração plasmática de ACTH endógena, com a redução dos níveis da hormona hipofisária. Estes dados traduziram, assim, uma dissociação entre as concentrações plasmáticas de ACTH e de cortisol, sugerindo a presença de mecanismos de regulação da secreção adrenocortical, extra-hipofisários na doença não adrenal. Desta forma, Vermes et al. (1995) bem como outros autores (Dimopoulou et al., 2002), demonstraram que durante o estado patológico, o eixo HHA pode não sofrer, apenas, a via simples de activação, evidenciando-se uma resposta bifásica que reflecte possíveis modificações longitudinais na adaptação deste eixo biológico à doença. A primeira fase é caracterizada pela tradicional hiperactivação do eixo HHA na resposta fisiológica ao stress, a qual resulta em elevados níveis de cortisol basal e de ACTH endógena, tendo esta etapa, o consenso da comunidade científica (Dimopoulou et al., 2002). No entanto, numa segunda fase, os níveis de ACTH endógena variam, paradoxalmente à persistência de hipercortisolémia, correlacionando-se fracamente com a secreção adrenocortical. Com efeito, Reincke, Allolio, Wurth e Winkelmann (1993) identificaram uma sensibilidade hipofisária atenuada ao retrocontrolo negativo exercido pelos glucocorticóides (teste de estimulação pela CRH) em doentes críticos hospitalizados na Unidade de Cuidados Intensivos.

Diversos mecanismos possíveis e adicionais ao efeito do retrocontrolo negativo exercido pelos glucocorticóides, têm sido considerados na explanação da segunda fase da adaptação do eixo HHA a estados patológicos críticos. Com efeito, tem sido sugerido que a ACTH, durante períodos de stress prolongados, possa ter um efeito trófico nos seus receptores,

aumentando a resposta das células adrenocorticais, e que a taxa de metabolização e eliminação do cortisol esteja diminuída em caso de stress ou doença (Kaplan et al., 1995). Por outro lado, a lesão tissular ou inflamação, não promove apenas a activação do eixo em estudo, induzindo, também, a fase de reacção aguda do sistema imunitário bem como a activação do sistema cardiovascular, o que envolve a síntese e libertação de péptidos vasoactivos, nomeadamente a endotelina-1 e o factor natriurético atrial. Ambas as moléculas, descritas na literatura como possíveis intervenientes na regulação fisiológica do eixo HHA a diferentes níveis (Engler et al., 1999), foram identificadas em concentrações elevadas na circulação sistémica de doentes críticos (Vermes et al., 1995), sendo, desta forma, susceptíveis de desempenhar um importante papel no controlo neuro-humoral do mesmo. Outros péptidos podem, também, ser intervenientes na modulação da resposta da ACTH e do cortisol durante os processos patológicos, tais como a vasopressina, a angiotensina II, o neuropeptídeo Y, entre outros (Semple, 1986; Vermes et al., 1995). Estudos adicionais revelam-se, assim, essenciais no esclarecimento dos mecanismos referidos, subjacentes à função hipofisária-adrenocortical na afecção não adrenal.

É ainda de mencionar, o importante papel de várias citocinas, nomeadamente a IL-1, a IL-6 e o TNF- $\alpha$ , na fase aguda da resposta do sistema imunitário e na activação do eixo HHA, induzidas pelo stress inflamatório e não inflamatório (Munk et al., 1984; Vermes et al., 1995; Weber et al., 1997; Dimopoulou et al., 2002; Nicolas, 2004).

Os reduzidos níveis de ACTH endógena verificados podem, também, não traduzir os valores plasmáticos reais, uma vez que tem sido sugerido na literatura, que os leucócitos na circulação periférica podem sintetizar ACTH com actividade biológica mas com reactividade imunológica alterada, passível de não ser detectada pelos métodos de doseamento utilizados (Vermes et al., 1995).

Embora, em resposta ao stress provocado pela afecção, ocorra, na maioria dos casos, um aumento na secreção adrenocortical, tem-se verificado níveis de cortisolémia inapropriadamente baixos em alguns doentes, o qual tem sido designado como Insuficiência Adrenal Relativa (RAI - *Relative Adrenal Insufficiency*) devido ao facto do córtex adrenal não responder suficientemente a estímulos de stress adicional (Ligtenberg, van der Werf, Tuijken, Beentjes & Zijlstra, 1999; de Jong et al., 2007). No entanto, o hipoadrenocorticism absoluto é considerado raro em doentes com afecção não adrenal, sendo a incidência de RAI variável e dependente da doença subjacente e do seu grau de gravidade. De acordo com alguns estudos, a falta de resposta da glândula adrenal tem também sido associada a aumentos das taxas de morbilidade e mortalidade (Bishop & Ross, 1971; Oppert et al., 2005), embora existam diversos dados contraditórios (Sibbald, Short, Cohen & Wilson, 1977; Span et al., 1992; Gannon et al., 2006).

De facto, diversos estudos têm revelado a existência de função adrenal diminuída em variadas afecções, principalmente de carácter agudo e elevado grau de severidade,

nomeadamente em doentes com sepsis e choque séptico (20%; 25 a 40% e 81,6% em diferentes estudos) (Sibbald, Short, Cohen & Wilson, 1977; Martinez & Marcos, 1991; Chacko, John, Thomas & Nellickal, 2009, respectivamente), politraumatizados (40 a 82%) (Gannon et al., 2006), entre outras afecções não sépticas graves (Dimopoulou et al., 2002). A existência de RAI tem também sido demonstrada em alguns estudos envolvendo afecções crónicas, tais como doença autoimune, doença inflamatória crónica, síndrome de fadiga crónica, fibromialgia (Anisman et al., 1996; Cleare et al., 2001), doença oncológica (Bishop & Ross, 1971) e outras afecções graves com alguma cronicidade (Span, 1992). Segundo Gannon et al. (2006), a incidência geral de RAI em doentes críticos de alto risco (doentes com hipotensão, choque ou sepsis) é de 30 a 45 %, aproximadamente, aumentado com a gravidade da afecção.

Alguns mecanismos têm sido considerados como estando envolvidos no desenvolvimento de hipofunção adrenal. Tem sido fortemente sugerido que durante períodos longos de stress e/ou doença, o córtex adrenal atinge a sua capacidade máxima de activação, excedendo a reserva adrenal de cortisol, o que se traduz numa incapacidade de resposta à estimulação adicional pela ACTH exógena. Esta hipótese tem como suporte, a interpretação simultânea da cortisolémia basal e pós-estimulação pela ACTH, dado que na maioria dos casos, valores de cortisolémia basal normais ou superiores aos valores de referência precedem uma baixa resposta ao teste de estimulação referido (Dimopoulou et al., 2002; Chacko et al., 2009).

Por outro lado, de acordo com Gannon et al. (2006), verificou-se uma correlação positiva entre baixos valores de cortisolémia pós – estimulação pela ACTH detectados em doentes críticos e a concomitante existência de hipoproteínemia (hipoalbuminémia), o que poderá justificar os baixos valores de cortisol verificados, uma vez que não existem disponíveis métodos de doseamento de cortisol plasmático livre. Chacko et al. (2009) excluíram outros parâmetros possíveis de se correlacionarem significativamente com uma fraca resposta de cortisol após a estimulação, tais como, a idade, os valores médios de pressão arterial, o pH sanguíneo e a natrémia.

Têm ainda sido apontadas como causa para a RAI, lesões nas glândulas adrenais, provocadas pelos próprios processos patológicos, nomeadamente infecciosos, vasculares, invasivos ou imunomediados (Sibbald et al., 1977; Serrano et al., 1992).

Relativamente à função do eixo HHA em doentes veterinários críticos, estudos iniciais foram realizados, evidenciando resultados divergentes: hipofunção e hiperfunção do eixo. Denota-se, assim, a necessidade da realização de estudos adicionais, de forma, a melhor compreender as alterações hipofisárias-adrenais durante períodos de doença não adrenal.

Num estudo envolvendo cães com variadas afecções não adrenais, tais como *diabetes mellitus*, doença hepática e doença renal, 52% dos animais apresentaram uma resposta inadequada 8 horas após a realização do teste de supressão pela dexametasona (dose baixa) e 36% apresentaram uma resposta exagerada ao teste de estimulação pela ACTH



(valores de cortisol superiores aos valores de referência) (Chastain, Franklin, Ganjam & Madsen, 1986), evidenciando-se hiperfunção adrenocortical. Noutro estudo realizado em 59 animais e no qual foram avaliados os efeitos de doença não adrenal baseados nos resultados obtidos nos testes diagnósticos de hiperadrenocorticism no cão verificou-se a existência de actividade adrenocortical excessiva, traduzida pelos resultados falso-positivos nos testes funcionais efectuados aos animais com doença não adrenal, nomeadamente, 34% apresentaram hipercortisolémia basal, 38% e 56% manifestaram cortisolémia inadequada 4 e 8 horas, respectivamente, após a administração de dexametasona (dose baixa), 14% demonstraram cortisolémia excessiva pós-estimulação pela ACTH e 76% dos doentes apresentaram um elevado RCCU (Kaplan et al., 1995). A hiperfunção do eixo HHA foi também demonstrada em cachorros com parvovirose, 63% dos quais, apresentavam cortisolémias basais elevadas e crescentes com o agravamento do estado do doente (Shoeman, Goddard & Herrtage, 2007).

Por outro lado, vários estudos indicam a existência de hipofunção do eixo HHA em animais com doença não adrenal. De acordo com um estudo recente, 55% dos cães com doença crítica, nomeadamente, com sepsis, traumatismo ou torção gástrica, apresentaram, pelo menos, um resultado anormal nos testes funcionais do eixo HA a que foram sujeitos, nomeadamente, doseamento de cortisol basal, teste estimulação pela ACTH e doseamento de ACTH endógena, os quais são sugestivos da presença concomitante de insuficiência a nível hipofisário ou adrenal, embora a frequência relativa de cada valor anómalo seja baixa. Detectaram-se, assim, valores de cortisolémia basal normais ou superiores aos valores de referência, associados a valores plasmáticos baixos de ACTH endógena, o que poderá ser significativo da perda de correlação entre as concentrações plasmáticas de ACTH endógena e de cortisol basal tal como verificado em doentes humanos (Martin et al., 2008). Um estudo anterior havia indicado também, a presença de função adrenal diminuída em doentes caninos com doença não adrenal (Burkitt, Haskins, Nelson & Kass, 2007).

Foram efectuados estudos noutras espécies animais onde se verificaram resultados indicativos de insuficiência hipofisária ou adrenal, nomeadamente, em potros recém-nascidos com sepsis ou afecção não séptica. Estes dados foram ainda positivamente correlacionados com a taxa de mortalidade (Hurcombe et al., 2008).

Alguns estudos revelam, ainda, uma função adrenocortical normal aquando da existência de doença não adrenal. Com efeito, Prittie e colaboradores (2002) não verificaram a presença de alteração significativa na função do eixo HHA na população canina em estudo (20 animais com doença crítica não adrenal admitidos na Unidade de Cuidados Intensivos). Na espécie felina, a função adrenal foi também avaliada em animais com afecções não adrenais, com resultados pouco conclusivos. Os animais foram diferenciados em três grupos: um grupo constituído por gatos com *diabetes mellitus*; outro com gatos com afecção não diabética tais como insuficiência renal crónica, hipertiroidismo, neoplasia e disautonomia

e ainda um grupo controlo de gatos saudáveis. Neste estudo, não se verificaram diferenças significativas entre os 3 grupos relativamente à cortisolémia basal e à resposta adrenal aos testes de estimulação pela ACTH e de supressão pela dexametasona, verificando-se, no entanto, alguma variação dentro de cada grupo. Nos gatos diabéticos assim como nos hipotiroideos, as concentrações plasmáticas de cortisol tendem a ser as mais elevadas (Zerbe et al., 1987).

Evidencia-se assim que, independentemente da espécie em causa, se verificam alterações de função do eixo HHA no decorrer de doença não adrenal, os quais variam com o tipo de afecção e com o grau de gravidade da mesma, bem como com as características particulares do indivíduo e do ambiente e estudo em que este se encontra inserido. A falha no reconhecimento de alterações hormonais concomitantes a determinada afecção pode conduzir a uma abordagem diagnóstica e terapêutica errónea e inapropriada. Por outro lado, o conhecimento das alterações hormonais expectáveis num determinado processo patológico permite prevenir o diagnóstico errado de uma endocrinopatia primária (Semple, 1986).

#### **4.2 Doença Oncológica: Efeitos na Função do Eixo Hipofisário-Adrenal**

A prevalência de doença oncológica em animais de companhia tem vindo a aumentar nos últimos anos, o que se deve, entre outras razões, ao aumento da esperança de vida nestes animais, uma vez que o cancro afecta, maioritariamente, indivíduos geriátricos. Desta forma, a doença oncológica consiste, actualmente, na maior causa de morte em carnívoros domésticos, o que associado à crescente prevalência e às exigências cada vez maiores por parte dos proprietários, se tem reflectido na necessidade de alargar e aprofundar os conhecimentos científicos nesta área de forma a melhorar a abordagem clínica do doente veterinário oncológico (Withrow, 2007).

Neste âmbito, importantes avanços no conhecimento e compreensão das anomalias moleculares que ocorrem no desenvolvimento e na progressão da doença oncológica, têm permitido a caracterização dos mecanismos fisiopatológicos e a identificação de novas formas de prevenção e terapêutica oncológicas. Dado a importância da interacção bidireccional existente entre os sistemas endócrino e imunitário, onde se destaca, pelo seu papel crucial, o eixo HHA, esta tem sido alvo de imensa investigação *per se*, bem como no contexto da doença não adrenal, onde se enquadra a doença oncológica. Com efeito, diversos estudos têm sido realizados de forma a elucidar as modificações expectáveis na actividade do eixo biológico em estudo no decurso de doença oncológica, quer em seres humanos quer em animais de companhia.

De facto, neste contexto, diversas alterações têm sido demonstradas pelos estudos efectuados. O excesso de actividade das glândulas adrenais tem sido documentado em doentes humanos com doença oncológica, nomeadamente, mieloma múltiplo (Everaus et al., 1993), leucemia linfocítica crónica (Everaus, 1992; Everaus et al., 1992; Everaus, et al., 1997) e carcinoma pulmonar, entre outros carcinomas (Bishop & Ross, 1971; Jenkins et al., 1999; Sirachainan & Kalemkerian, 2002). Nestes doentes, verificaram-se, assim, alguns dados indicativos de hiperfunção adrenal, tais como aumento da concentração plasmática de cortisol basal (Bishop & Ross, 1971; Everaus, 1992; Everaus et al., 1992; Everaus et al., 1993; Everaus et al., 1997), supressão adrenal inadequada em resposta à administração de dexametasona (Bishop & Ross, 1971; Jenkins et al., 1999) e hiperplasia das glândulas adrenais (Jenkins et al., 1999). A presença simultânea de hipercortisolémia basal e de insuficiente supressão em resposta à dexametasona foi, ainda, associada a um prognóstico reservado em doentes com carcinomas diversos (Bishop & Ross, 1971).

Em certos tumores, a hipersecreção de cortisol persistente tem sido sugerida como passível de desempenhar um papel no aparecimento e perpetuação do tumor, através da disfunção da acção glucocorticóide no sistema imunitário (Everaus, 1992; Everaus et al., 1992; Everaus et al., 1993; Jenkins et al., 1999). Del Rey, Besedovsky e Sorkin (1984) demonstraram que, embora os glucocorticóides suprimam o número de linfócitos, as flutuações nas concentrações plasmáticas de cortisol são necessárias para a normal produção de células linfóides, prevenindo a proliferação linfocítica. Além disso, os efeitos dos glucocorticóides nas diferentes classes de linfócitos e nas variadas reacções imunológicas são diversos, o que sugere que o papel fisiológico destas hormonas na intervenção da resposta imunitária sob diferentes condições possa não conduzir a uma supressão integral. Desta forma, a persistência de elevados níveis de cortisolémia pode induzir a desregulação da interacção endócrino-imunitária, permitindo uma proliferação linfocítica excessiva bem como deficiências a nível de certas linhas linfocitárias, o que poderá promover o desenvolvimento de mieloma múltiplo e de leucemia linfocítica crónica (Everaus et al., 1992; Everaus et al., 1993). Com efeito, elevados níveis de cortisolémia foram demonstrados nos estadios iniciais de ambos os tumores (Everaus et al., 1992; Everaus et al., 1993).

Por outro lado, aquando da realização da terapêutica quimioterápica, a presença de hipercortisolémia persistente em doentes oncológicos, pode conduzir a imunossupressão, exacerbando este efeito adverso do tratamento. De facto, em doentes com leucemia linfocítica crónica e mieloma múltiplo, a idoneidade dos linfócitos em responder a certos estímulos encontrava-se suprimida, possivelmente devido à hipercortisolémia (Everaus, 1992).

Em doentes com leucemia linfocítica crónica foi também demonstrado que a concentração de ACTH endógena não é afectada pelo retrocontrolo negativo exercido pela

hipercortisolémia, encontrando-se os seus valores elevados (Everaus, 1992). Esta constatação parece evidenciar a existência de uma dissociação entre as concentrações plasmáticas da hormona hipofisária e de cortisol, embora diferente da documentada em doentes com outras doenças não adrenais, nas quais os indivíduos apresentavam hipercortisolémia persistente e concentração de ACTH endógena baixa, facto que pode traduzir uma disfunção ao nível da regulação do eixo HHA. Por outro lado, a ACTH pode ser produzida por linfócitos activados, o que poderá explicar a persistência da concentração elevada. Este facto sugere a existência de um eixo imuno-adrenal, no qual os linfócitos constituem a interface funcional para estímulos tais como as células tumorais, e cuja acção não pode ser excluída da participação ou interferência no aparecimento e/ou desenvolvimento de certas neoplasias (Everaus, 1992).

Outro mecanismo fisiopatológico relacionado com as alterações de função do eixo HHA e com a sua repercussão na relação HHA - sistema imunitário aquando de doença oncológica, tem sido sugerido, tendo por base a acção de citocinas. Relativamente a estas, têm existido evidências da produção de algumas delas (IL-6, TNF- $\alpha$  e Interferão- $\gamma$ ) por células tumorais, tendo, a secreção de IL-6, sido correlacionada recentemente com o estado de doença e associada a um prognóstico menos favorável (Jenkins et al., 1999).

De acordo com estudos realizados envolvendo diversos carcinomas, demonstrou-se que as elevadas concentrações plasmáticas de cortisol podem também ter origem paraneoplásica, tratando-se de hipercortisolémias secundárias a secreção tumoral ectópica de ACTH ou de um péptido similar (Jenkins et al., 1999).

Relativamente às dimensões das glândulas adrenais, Jenkins et al., (1999) demonstraram que estas se encontravam significativamente aumentadas em doentes com doença oncológica comparativamente a indivíduos sãos, correlacionando-o com a hiperactividade adrenocortical verificada nestes doentes. Verificou-se ainda que os doentes com neoplasia não hematopoiética apresentavam glândulas adrenais de dimensões maiores relativamente àqueles com neoplasias hematopoiéticas. A hipótese deste aumento ser devido à existência de metástases revelou-se pouco significativa, já que as hiperplasias identificadas eram bilaterais, simétricas, de natureza difusa e sem evidência de nódulos focais, não se registando diferenças ao longo dos vários estadios da doença. No entanto, não se pôde excluir a existência de metástases microscópicas nas glândulas adrenais, embora estas não sejam, normalmente, associadas a hiperplasia adrenal (Jenkins et al., 1999).

Relativamente aos carnívoros domésticos, o efeito de doença oncológica na função do eixo HHA não é bem compreendido. Embora estudos anteriores tenham documentado resultados falso-positivos em testes de diagnóstico de hiperadrenocorticismismo em cães com doença não adrenal (Kaplan et al., 1995), apenas dois estudos abordaram especificamente a função adrenal em cães com neoplasia, num dos quais, o linfoma foi o único tumor avaliado (Gieger et al., 2003), tendo o restante estudo como objecto de análise, cães com variados tipos de

neoplasias não-hematopoiéticas e hematopoiéticas comparativamente a cães são (Boozer et al., 2005). Na espécie felina, foi também realizado um estudo, no qual foi avaliada a função adrenal em gatos com linfoma (Farrelly et al., 1999, citado em Boozer et al., 2005).

De acordo com o estudo realizado em 10 cães com linfoma, antes e durante o tratamento, 9 dos 10 cães doentes obtiveram valores elevados nos RCCU, embora apenas um resultado elevado tenha sido detectado, no que diz respeito à concentração plasmática de cortisol. Em relação à medição ecográfica das glândulas adrenais, nenhum valor anormal foi identificado, ainda que, tenham sido detectados 5 valores no limite superior do intervalo de referência (Gieger et al., 2003).

No estudo realizado em 2005 por Boozer e colaboradores, não foram detectadas diferenças significativas entre os cães com neoplasia e os cães saudáveis, relativamente às concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH bem como entre os cães com linfoma e os cães com neoplasia não hematopoiética em relação às concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena. No que diz respeito ao grau de severidade da doença, também nenhuma diferença significativa foi demonstrada entre os animais com doença oncológica leve, moderada e severa. No entanto, dos 20 cães com linfoma avaliados, 15% apresentavam valores elevados de cortisolémia basal, 5% tinham resposta exagerada ao teste de estimulação pela ACTH e 5% apresentavam concentração plasmática de ACTH endógena elevada. Dos 15 cães com doença oncológica não hematopoiética, 20% tinham valores elevados de cortisolémia basal, 7% tinham resposta exagerada ao teste de estimulação pela ACTH e nenhum animal apresentou valores anómalos de concentração plasmática de ACTH endógena. Contudo, 5% dos animais com linfoma e 13% dos animais com neoplasia não-hematopoiética, apresentavam concentrações plasmáticas de cortisol basal diminuídas, enquanto 20% e 13%, respectivamente, obtiveram respostas subnormais à administração de ACTH exógena. Os valores de ACTH endógena encontravam-se abaixo do intervalo de referência em 10% dos animais com linfoma e em 7% dos animais com neoplasia não-hematopoiética. Na totalidade, 10 glândulas adrenais encontravam-se aumentadas em 7 cães, 5 com linfoma e 2 com neoplasia não-hematopoiética. Desta forma, este estudo demonstrou evidências da ocorrência de insuficiência adrenal hipofiso-dependente e de origem adrenal bem como de hiperfunção adrenal hipofiso-dependente e de origem adrenal em cães com doença oncológica (Boozer et al., 2005). Este foi, assim, o primeiro estudo a demonstrar evidências de hipofunção adrenal em cães com neoplasia não adrenal, sendo também uma manifestação muito rara em doentes oncológicos humanos sem sinais de metastização adrenal (Shantha et al., 2009). Com efeito, no homem, as glândulas adrenais são frequentemente envolvidas por doença metastática de uma variedade de neoplasias. Contudo, a insuficiência adrenocortical resultante de doença metastática é uma manifestação raramente identificada e somente alguns casos têm o diagnóstico

documentado por estudos hormonais (Serrano, Tejedor, Garcia, Hallal, Polo & Alguacil, 1993). Desta forma, o envolvimento destes órgãos endócrinos ocorre em cerca de 4% dos doentes com linfoma (Paling & Williamson., 1983; Huminer, Garty, Lapidot, Leiba, Borohov & Rosenfeld, 1988; Harris, Tio & Hoff, 1989; Gamelin, Beldent & Rousselet, 1992; Gunn, Cuthbert & Trueman, 1992; Serrano et al., 1993), podendo também resultar da infiltração metastática de tumores não hematopoiéticos, sendo os mais frequentes, os adenocarcinomas mamário e gástrico, o carcinoma broncogénico e o melanoma maligno (Seidenwurm, Elmer, Kaplan, Williamiams, Morris & Hoffman, 1984; Serrano et al., 1993) entre outras neoplasias (Hasan, Yonan & Lawson, 1991; Lardinois, Zeng, Marshall, 1993; Zanella, Eyff, Dora, Gross & Silveiro, 2007). Os doentes nos quais a insuficiência adrenal se desenvolve secundariamente a metástases adrenais têm geralmente doença avançada devido a esta apenas se desenvolver caso ocorra destruição de 80 a 90% do órgão, o que explica, também, a sua rara manifestação clínica (Gamelin et al., 1992). Por exemplo, em doentes com linfoma não-Hodgkin, 25 a 35% dos indivíduos apresentam envolvimento adrenal, mas apenas, 3% dos doentes desenvolve sinais clínicos de hipoadrenocorticismismo (Serrano et al., 1993).

Na espécie felina, foram identificados 2 casos com sinais clínicos e bioquímicos de insuficiência adrenal secundária a infiltração metastática por linfoma (Parnell, Powell, Hohenhaus, Patnaik & Peterson, 1999). Relativamente à espécie canina, a ausência de casos documentados de insuficiência adrenal em doença oncológica, nomeadamente linfoma poderá ser explicado pelo facto destes doentes serem tratados com prednisona como parte integrante do protocolo de quimioterapia, podendo o seu efeito mascarar ou evitar a manifestação clínica e bioquímica de hipofunção adrenal (Boozer et al., 2005).

Em relação à ocorrência de RAI em doentes oncológicos sem metastização adrenal, a fisiopatologia inerente é pouco compreendida, sendo comparada ao sugerido para a afecção não adrenal e não oncológica. Os mecanismos fisiopatológicos propostos incluem assim: a incapacidade da glândula adrenal de secretar cortisol suficiente durante longos períodos de stress secundário a doença; a diminuição da resposta à IL-6, a qual promove uma subestimulação do eixo HHA, e consequentemente, redução da secreção de ACTH e de cortisol; a inibição da função adrenal por certas citocinas, tal como o TNF- $\alpha$ , através da inibição da acção da ACTH e da angiotensina II, o que tem sido, no entanto, controverso já que estas moléculas são também referidas como passíveis de activar a função do eixo estudado, e o aumento da resistência aos glucocorticóides, induzido pelo factor inibitório de migração, secretado pelos macrófagos (Ashton & Simmons, 2008).

No que concerne ao tratamento de RAI, a potencial utilização terapêutica de glucocorticóides é extremamente controversa e limitada devido aos resultados divergentes obtidos nos estudos realizados (Martinez & Marcos, 1991; Oppert et al., 2005; Chacko et al., 2009).

Estudos adicionais devem ser realizados de forma a esclarecer a verdadeira prevalência de RAI secundária a doença oncológica metastática ou não metastática em doentes veterinários como também para elucidar os mecanismos fisiopatológicos subjacentes e formas de prevenção e tratamento da mesma.

#### **4.2.1 Síndrome de ACTH Ectópica**

Os síndromes paraneoplásicos consistem nas manifestações clínicas dos efeitos sistémicos indirectos e distantes do tumor, tais como alterações a nível de estrutura e/ou de função, as quais são produzidas maioritariamente pelos metabolitos ou produtos secretados pelo mesmo, não sendo mediados directamente, pela invasão do tecido normal, pela disfunção do órgão envolvido pelo tumor ou pelo desenvolvimento de metástases. Por vezes, os síndromes paraneoplásicos podem ser mais graves do que as consequências directas do tumor primário e podem preceder, ser concorrentes ou ser posteriores à manifestação clínica do mesmo. Podem ainda dominar o quadro clínico e induzir erros de diagnóstico, no que diz respeito à origem e ao tipo de tumor primário (Gorman & Dobson, 1990; Cullen, Page & Misdorp, 2002; Bergman, 2007; Ferlito, Elsheikh, Manni & Rinaldo, 2007).

A produção ectópica de ACTH ou de um péptido similar foi o segundo síndrome paraneoplásico documentado em humanos, tendo sido descrito pela 1ª vez por W.H. Brown, em 1928 (Uecker & Janzow, 2005). Em medicina humana, o síndrome de ACTH ectópica tem sido associado a uma grande variedade de tumores que se inserem, principalmente, em quatro categorias histológicas: carcinoma pulmonar das pequenas células (50%), feocromocitoma (3%), tumores pancreáticos das ilhotas de Langerhans (10%), e tumores carcinóides (15%). Estes últimos são, predominantemente, de origem brônquica, tímica e mais raramente gastrointestinal (Philippon, 2005 ; Uecker & Janzow, 2005; Bergman, 2007; Coe, Tan & Fox, 2008; Fazel, Ganesa, Mennel & Austin, 2008).

Na espécie canina, este síndrome foi documentado, apenas, em alguns animais, nomeadamente num cão com tumor pulmonar primário, noutro com tumor abdominal neuroendócrino e ainda num cão com síndrome de sella vazia, cuja origem ectópica de ACTH não foi diagnosticada (Ogilvie et al., 1989; Galac et al., 2005; Burgener, Gerold, Tomek & Konar, 2007). Na espécie felina, nenhum caso de síndrome de ACTH ectópica foi documentado.

A produção ectópica é um fenómeno que surge após a transformação neoplásica do tecido que, habitualmente, não produziria essa hormona ou péptido. A hormona produzida pelo tumor pode ser idêntica à sintetizada fisiologicamente pelo organismo, bem como, poderá ser secretada com algumas modificações estruturais (Júnior & Cardoso, 2003). As moléculas com actividade biológica predominantes neste síndrome são a ACTH,

precursores da ACTH, as endorfinas, as encefalinas e a  $\alpha$ -MSH. Estas promovem a produção excessiva de corticosteróides pelas glândulas adrenais, o que pode resultar em sinais clínicos similares aos decorrentes do hiperadrenocorticismismo hipofiso-dependente ou de origem adrenal (Bergman, 2007).

O seu diagnóstico realiza-se assim, pela presença concomitante de sintomatologia típica, de concentração plasmática de ACTH endógena elevada associada a supressão anormal do cortisol à administração de dexametasona, de doença oncológica diagnosticada, bem como, pela exclusão da existência de tumor hipofisário (Galac et al., 2005; Bergman, 2007). Adicionalmente, os doentes costumam apresentar hiperplasia adrenal bilateral (Philippon, 2005 ; Uecker & Janzow, 2005; Coe, Tan & Fox, 2008). A remissão do síndrome, acontece habitualmente com a extirpação do tumor secretor, podendo-se utilizar, se necessário, terapêutica médica tal como mitotano ou quetoconazol (Shepherd, Hoffert, Evans, Emery, & Trachtenberg, 1985; Philippon, 2005 ; Bergman, 2007). Segundo Zeiger et al. (1992), os tumores primários localizados na cavidade torácica têm revelado melhor prognóstico relativamente à cura deste síndrome, comparativamente aos tumores localizados na cavidade abdominal.





## Parte II

# Avaliação da Função do Eixo Hipofisário-Adrenal em Gatos com Doença Oncológica Não-Hematopoiética Estudo Experimental

---

## 1. Estudo Experimental

---

### 1.1 Introdução

Na espécie felina, o efeito da doença oncológica na função do eixo hipofisário-adrenal não é bem compreendido. Embora alguns estudos tenham revelado alterações de função deste eixo biológico em gatos com doença não adrenal, apenas um estudo abordou especificamente a função adrenal em gatos com neoplasia, onde o linfoma foi o único tumor avaliado (Farrelly et al., 1999, citado em Boozer et al., 2005). Assim o nosso estudo teve como objectivo avaliar se a doença oncológica não hematopoiética afecta a função hipofisária e/ou adrenal no gato.

### 1.2 Materiais e Métodos

#### 1.2.1 Animais

Este estudo foi realizado em cinco gatos com doença oncológica recentemente diagnosticada, incluídos no grupo teste, e quatro gatos saudáveis, pertencentes ao grupo controlo, que se apresentaram à consulta externa do hospital escolar da FMV-UTL entre Junho e Setembro de 2009. O envolvimento de todos os animais foi realizado com a permissão e autorização dos proprietários.

O grupo controlo envolveu 4 gatos do sexo feminino, sendo 3 não ovariectomizadas e 1 ovariectomizada. Os gatos admitidos neste grupo apresentaram-se à consulta externa do hospital escolar da FMV-UTL no âmbito de medicina preventiva (vacinas e consulta pré-cirúrgica para ovariectomia sem doença associada) e foram classificados como saudáveis com base na história pregressa, segundo a qual não revelavam antecedentes médico-cirúrgicos relevantes, no exame clínico, no qual apresentavam parâmetros vitais normais e bom estado geral e nas análises hematológicas e bioquímicas sanguíneas, nas quais não se verificaram alterações significativas.

O grupo teste, o qual denominaremos grupo com doença oncológica, incluiu 5 gatos do sexo feminino, sendo 4 não ovariectomizadas e 1 ovariectomizada. Os gatos admitidos neste grupo cumpriram os seguintes critérios de selecção: doença oncológica diagnosticada por histopatologia, ausência de metástases pulmonares identificáveis em exame radiográfico bem como de quadro clínico pré-existente característico de doença do eixo hipofisário-adrenal, inexistência de administração de glucocorticóides durante as 4

semanas anteriores e de anestesia nas 48 horas prévias e ausência de realização prévia de terapêutica antineoplásica.

Todos os gatos incluídos no estudo pertenciam a raça indeterminada e eram do sexo feminino, dado a casuística apresentada à consulta externa do hospital escolar da FMV-UTL durante o período em que decorreu o estudo em causa.

### **1.2.2 Colheita de Amostras para Procedimento Histopatológico**

Os tumores identificados nos gatos pertencentes ao grupo teste incluem: carcinoma das células escamosas (espinocelular) na zona peri-orbitária (n=1), fibrossarcoma nas zonas axilares esquerda e direita (n=1), carcinoma mamário (n=2) e adenocarcinoma do endométrio (n=1). Todos os tumores foram diagnosticados por análise histopatológica. As amostras para análise histopatológica de todos os tumores foram obtidas por exereses das massas tumorais.

### **1.2.3 Avaliação do Eixo Hipofisário-Adrenal**

Como métodos de avaliação da função do eixo em estudo foram escolhidos: o teste de estimulação pela ACTH, dado ser o único teste funcional que diagnostica alterações quer a nível de hiperfunção quer de hipofunção do eixo HA, e o doseamento da concentração plasmática de ACTH endógena, dado que permite o diagnóstico etiológico em ambas as alterações referidas.

O teste de estimulação pela ACTH foi realizado em todos os animais, com início entre as 9 e as 10 h da manhã. Foi colocado um cateter venoso periférico em todos os animais, de forma a efectuar as várias colheitas de sangue com o mínimo de traumatismo e stress para os mesmos. Primeiramente, procedeu-se à colheita de sangue para o doseamento da concentração plasmática basal de cortisol, procedendo-se, em seguida, à administração IM de 0,125 mg de ACTH (Synacthen®, Nycomed Austria GmbH, Linz, Áustria), 1h após a qual foi efectuada nova colheita de sangue.

Paralelamente, aquando da colheita de sangue para o doseamento da cortisolémia basal, foi colhido sangue para o doseamento da concentração plasmática de ACTH endógena.

Após cada colheita, as amostras de sangue foram colocadas em tubos de plástico secos e imediatamente centrifugadas, recolhendo-se posteriormente o soro, que foi congelado a -20°C até à realização do ensaio.

### **1.2.4 Técnica utilizada para os Doseamentos Hormonais**

A técnica utilizada nos doseamentos de cortisol bem como de ACTH foi a Quimioluminescência, realizada no Cedivet – Centro de Diagnóstico Veterinário, Porto, Portugal. Segundo este laboratório, a sensibilidade do método no doseamento de cortisol é

de 0,2 µg/dl. Relativamente ao doseamento de ACTH a sensibilidade do método é de 5,0 pg/ml.

Considerou-se para o cortisol basal, o intervalo de referência de 1,00-5,00 µg/dl, para o cortisol pós-estimulação pela ACTH, o intervalo de referência de 6,20-18,80 µg/dl e para a ACTH endógena, o intervalo de referência de 10,00-125,00 pg/ml.

### **1.2.5 Avaliação Ecográfica das Glândulas Adrenais**

Duas gatas de cada grupo em estudo, teste e controlo, foram sujeitas à realização de ecografia abdominal com o objectivo de efectuar a medição das dimensões das glândulas adrenais. O exame ecográfico foi executado sempre pelo mesmo médico veterinário e com o animal em decúbito lateral para o lado da adrenal a visualizar ecograficamente, de forma a minimizar as variáveis intervenientes. No procedimento utilizou-se o Ultrasound Aloka Prosound 4000, usando a frequência de 7,5 MHz.

As dimensões das glândulas adrenais eram consideradas aumentadas caso apresentassem valores de diâmetro (medida standard) superiores a 0,46 cm, tal como recomendado por Nyland et al. (2001).

### **1.2.6 Análise Estatística**

Os dados foram analisados, utilizando o teste de *Mann-Whitney U*, de forma a comparar os resultados e a determinar as diferenças estatísticas entre os dois grupos de gatos, grupo teste e grupo controlo. A análise estatística foi realizada, utilizando o programa de suporte lógico estatístico PASW Statistics 18 para Windows, 2009 (SPSS® Inc., an IBM® Company, Chicago, Illinois, USA).

O nível de significância estatística considerado foi  $p < 0,05$ .

## **1.3 Resultados**

### **1.3.1 Caracterização da Amostra**

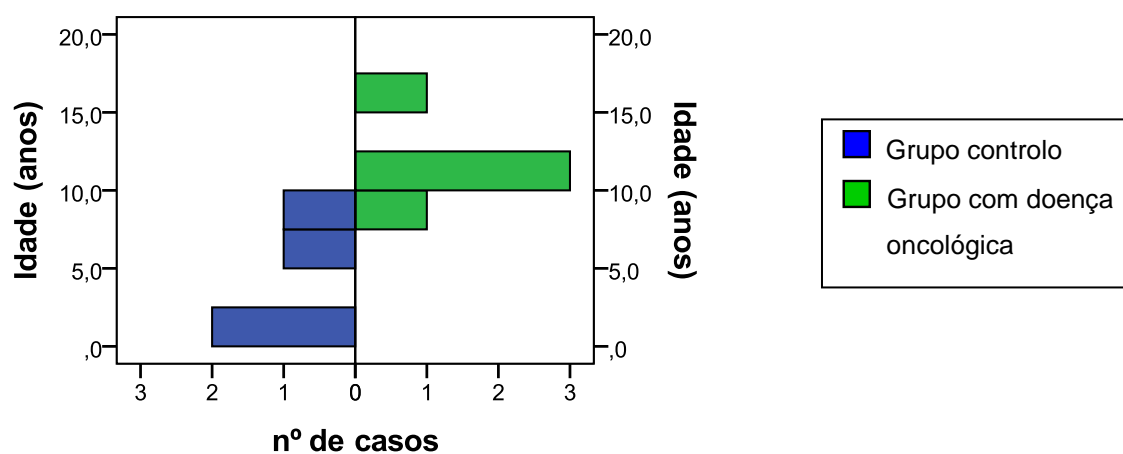
O grupo controlo envolveu 4 gatas com idades compreendidas entre 0,9 e 9 anos (idade média de 4,4 anos) e peso vivo (p.v.) compreendido entre 2,9 e 4,0 kg (p.v. médio de 3,4 kg).

O grupo com doença oncológica incluiu 5 gatas com idades compreendidas entre 9 e 16 anos (idade média de 11,6 anos) e p.v. compreendido entre 3,3 e 5,7 kg (p.v. médio de 4,5 kg).

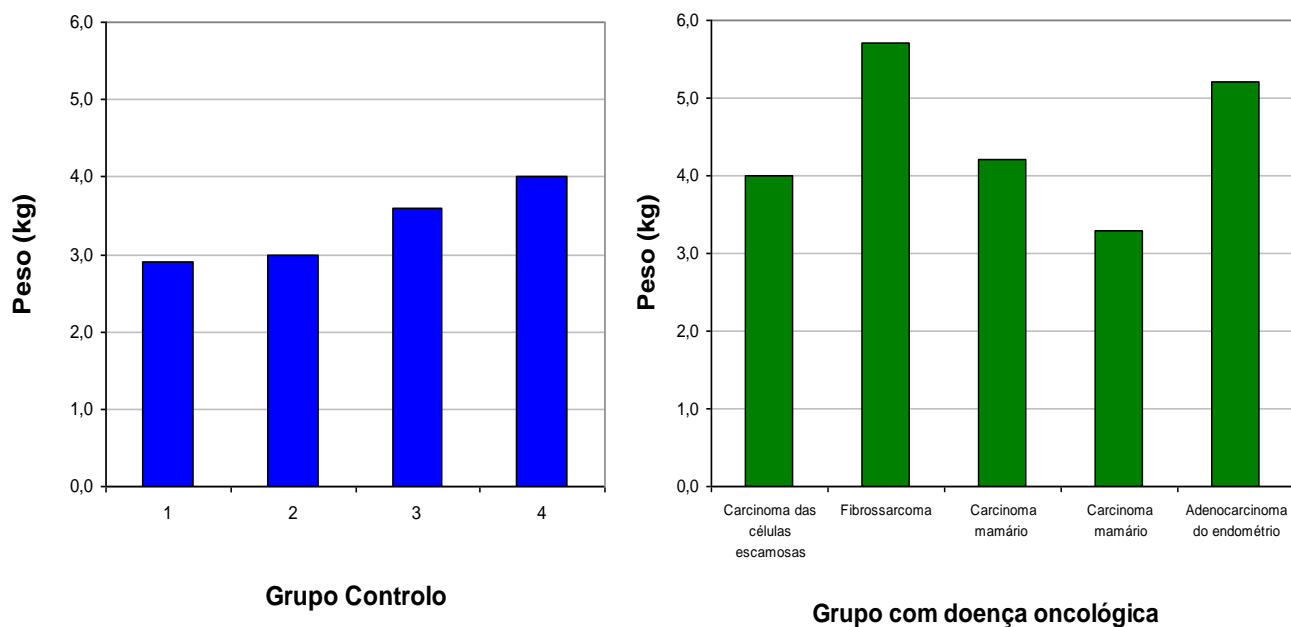
A diferença entre as idades médias dos gatos saudáveis e dos gatos com doença oncológica foi estatisticamente significativa ( $p = 0,019$ ; Gráfico 1).

Relativamente aos p.v. médios dos gatos saudáveis e dos gatos com neoplasia não existiu diferença estatística significativa entre os dois grupos ( $p = 0,065$ ; Gráfico 2).

**Gráfico 1:** Distribuição das idades (anos) em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com neoplasia (grupo com doença oncológica)



**Gráfico 2:** Distribuição do peso vivo (kg) em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com neoplasia (grupo com doença oncológica)



### 1.3.2 Valores de Cortisolémia Basal, de Cortisolémia pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena

No grupo controlo, os valores médios das concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação e de ACTH endógena foram de 4,28 µg/dl, 8,48 µg/dl e 65,70 pg/ml, respectivamente, como se mostra no Quadro 1.

No grupo com doença oncológica, os valores médios das concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação e de ACTH endógena foram de 4,14 µg/dl, 8,38 µg/dl e 14,34 pg/ml, respectivamente, como se mostra no Quadro 1.

**Quadro 1:** Concentrações plasmáticas médias de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena em gatos saudáveis (grupo controlo) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica)

	Cortisolémia basal (µg dl <sup>-1</sup> )	Cortisolémia pós-estimulação (µg dl <sup>-1</sup> )	ACTH endógena (pg ml <sup>-1</sup> )
<b>Gatos Saudáveis</b>	4,28 (1,20 - 6,50)	8,48 (6,90 - 10,0)	65,70 (12,70 - 148,0)
<b>Gatos com doença oncológica</b>	4,14 (2,10 - 6,80)	8,38 (3,80 - 14,0)	14,34 (5,0 - 32,5)
<b>Valores de Referência</b>	1,0 - 5,0	6,2 – 18,8	10,0 - 125,0

**Legenda:** Os valores fora de parênteses representam as médias das concentrações e os valores dentro dos mesmos representam as distribuições dos valores de cada grupo. ACTH, hormona adrenocorticotrófica.

No grupo controlo, uma gata apresentava concentração plasmática de cortisol basal aumentada (6,50 µg/dl), estando os restantes valores, cortisolémia pós-estimulação e concentração de ACTH endógena, dentro do intervalo de referência (10,00 µg/dl e 84,30 pg/ml, respectivamente). Outra gata tinha uma concentração plasmática de ACTH endógena elevada (148,00 pg/ml), apresentado valores de cortisolémia basal e pós-estimulação dentro do intervalo de referência (4,60 µg/dl e 7,00 µg/dl, respectivamente). Os restantes animais apresentavam valores de cortisolémia basal e pós-estimulação e de ACTH endógena dentro

dos intervalos de referência (4,80 e 1,20 µg/dl; 10,00 e 6,90 µg/dl e 17,80 e 12,70 pg/ml, respectivamente). Os resultados descritos encontram-se reunidos no Quadro 2.

**Quadro 2:** Concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena nas quatro gatas saudáveis

Gatos Saudáveis	Cortisolémia basal (µg dl <sup>-1</sup> )	Cortisolémia pós-estimulação (µg dl <sup>-1</sup> )	ACTH endógena (pg ml <sup>-1</sup> )
1	6,50	10,00	84,30
2	4,60	7,00	148,00
3	4,80	10,00	17,80
4	1,20	6,90	12,70
Valores de Referência	1,0 - 5,0	6,2 – 18,8	10,0 - 125,0

**Legenda:** ACTH, hormona adrenocorticotrófica.

No grupo com doença oncológica, apenas um animal, a gata com fibrossarcoma, apresentava concentração plasmática de cortisol basal aumentada (6,80 ug/dl), estando os valores de cortisolémia pós-estimulação e de concentração plasmática de ACTH endógena dentro do intervalo de referência (8,60 ug/dl e 32,50 pg/ml, respectivamente). Relativamente à concentração plasmática de cortisol pós-estimulação pela ACTH, a gata com adenocarcinoma do endométrio, apresentou uma resposta subnormal à administração da hormona hipofisária (3,80 µg/dl), tendo concomitantemente cortisolémia basal dentro do intervalo de referência (2,10 µg/dl) e concentração plasmática de ACTH endógena diminuída (9,70 pg/ml). Duas gatas, a gata com carcinoma das células escamosas e uma das gatas com carcinoma mamário, apresentaram concentração plasmática de ACTH endógena reduzida (5,00 e 9,70 pg/ml, respectivamente). Uma gata com carcinoma mamário tinha a cortisolémia basal no limite superior do intervalo de referência e a cortisolémia pós-estimulação dentro dos valores considerados normais (5,00 ug/dl e 14,00 µg/dl, respectivamente) enquanto a gata com carcinoma das células escamosas, apresentava ambos os valores de cortisolémia, basal e pós-estimulação, dentro dos intervalos de referência (4,00 µg/dl e 7,00 pg/ml, respectivamente). A outra gata com carcinoma mamário apresentou valores de cortisolémia basal e pós-estimulação bem como de ACTH dentro dos intervalos de referência (2,80 µg/dl, 8,50 µg/dl e 14,80 pg/ml, respectivamente). Os resultados descritos encontram-se reunidos no Quadro 3.



**Quadro 3:** Concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena nas cinco gatas com doença oncológica

Doença Oncológica	Cortisolémia basal ( $\mu\text{g dl}^{-1}$ )	Cortisolémia pós-estimulação ( $\mu\text{g dl}^{-1}$ )	ACTH endógena ( $\text{pg ml}^{-1}$ )
Carcinoma das células escamosas	4,00	7,00	5,00
Fibrossarcoma	6,80	8,60	32,50
Carcinoma mamário	2,80	8,50	14,80
Carcinoma mamário	5,00	14,00	9,70
Adenocarcinoma do endométrio	2,10	3,80	9,70
Valores de Referência	1,0 - 5,0	6,2 – 18,8	10,0 - 125,0

**Legenda:** ACTH, hormona adrenocorticotrófica.

No grupo controlo, 2 animais (50%) apresentaram um valor anormal referente ao eixo HA (cortisolémia basal de 6,50  $\mu\text{g/dl}$ ; ACTH endógena de 148,00  $\text{pg/ml}$ ), consistente com estimulação da hipófise ou das glândulas adrenais, como se mostra no Quadro 4.

No grupo com doença oncológica, 4 animais (80%) apresentaram, pelo menos, um valor alterado relativo à função do eixo HA (cortisolémia basal de 6,80  $\mu\text{g/dl}$ ; cortisolémia pós-estimulação pela ACTH de 3,80  $\mu\text{g/dl}$ ; ACTH endógena de 5,00; 9,70 e 9,70  $\text{pg/ml}$ ), consistente com insuficiência da hipófise ou com estimulação das glândulas adrenais, como é mostrado no Quadro 4 e no Gráfico 3.

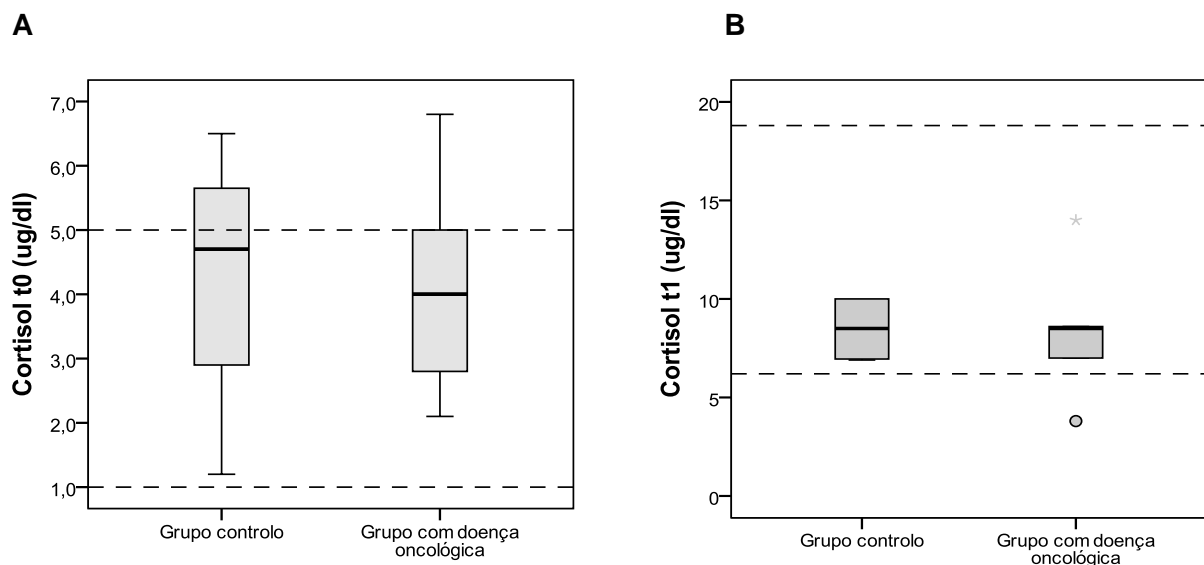
Comparando os gatos saudáveis e os gatos com doença oncológica, não se verificou diferença significativa entre os grupos no que diz respeito à concentração plasmática de cortisol basal ( $p = 1,000$ ; Gráfico 3A), à concentração plasmática de cortisol pós-estimulação pela ACTH ( $p = 0,902$ ; Gráfico 3B) e à concentração plasmática de ACTH endógena ( $p = 0,085$ ; Gráfico 4).

**Quadro 4:** Número (percentagem) de valores anormais das concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH e de ACTH endógena, em gatos saudáveis (grupo controle) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica)

	Cortisolémia basal aumentada	Cortisolémia basal diminuída	Cortisolémia pós-ACTH aumentada	Cortisolémia pós-ACTH diminuída	ACTH endógena aumentada	ACTH endógena diminuída
<b>Gatos saudáveis*</b>	1 (25%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (25%)	0 (0%)
<b>Gatos com doença oncológica**</b>	1 (20%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (20%)	0 (0%)	3 (60%)

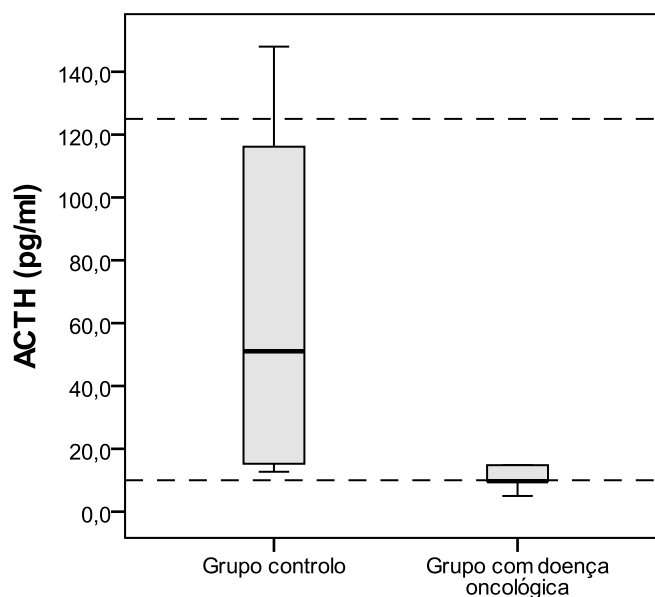
**Legenda:** ACTH, hormona adrenocorticotrófica. \* $n = 4$ ; \*\*  $n = 5$ .

**Gráfico 3:** Distribuição das concentrações plasmáticas de cortisol basal (t0) (A) e pós-estimulação (t1) (B) em gatos saudáveis (grupo controle) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica)



**Legenda:** As caixas representam a distribuição do interquartil entre o 25º e o 75º percentil. A barra presente nas caixas representa a mediana. A linha vertical (bigode) superior representa a população entre o percentil 10º e o 25º enquanto o bigode inferior representa a população entre o 75º e o 90º percentil. Os valores extremos são representados por círculos fechados. A área entre as linhas tracejadas indica o intervalo de referência respectivo.

**Gráfico 4:** Distribuição das concentrações plasmáticas de ACTH endógena em gatos saudáveis (grupo controle) e em gatos com doença oncológica (grupo com doença oncológica).



**Legenda:** As caixas representam a distribuição do interquartil entre o 25º e o 75º percentil. A barra presente nas caixas representa a mediana. A linha vertical (bigode) superior representa a população entre o percentil 10º e o 25º enquanto o bigode inferior representa a população entre o 75º e o 90º percentil. Os valores extremos são representados por círculos fechados. A área entre as linhas tracejadas indica o intervalo de referência respectivo.

### 1.3.3 Resultados Ecográficos

As dimensões das glândulas adrenais foram avaliadas ecograficamente em duas gatas do grupo controle e em duas gatas do grupo com doença oncológica, a gata com carcinoma das células escamosas e uma das gatas com carcinoma mamário. Ambas as glândulas adrenais foram visualizadas e medidas nas 4 gatas referidas. Todas as glândulas adrenais medidas se encontravam normodimensionadas. As gatas pertencentes ao grupo controle apresentavam valores de diâmetro da adrenal esquerda de 0,40 e 0,29 cm e da adrenal direita de 0,42 e 0,39 cm, respectivamente. A gata com carcinoma das células escamosas apresentava um diâmetro adrenal esquerdo de 0,38 cm e direito de 0,31 cm. A gata com carcinoma mamário apresentava um diâmetro adrenal esquerdo de 0,30 cm e direito de 0,35 cm. A média do diâmetro adrenal esquerdo no grupo com doença controle é de 0,35 cm enquanto a do diâmetro adrenal direito é de 0,38 cm. Relativamente ao grupo oncológica, a média do diâmetro adrenal esquerdo é de 0,34 cm e do diâmetro adrenal direito é de 0,33

cm. Estes resultados não foram estatisticamente analisados devido ao número reduzido da amostra.

#### 1.4 Discussão

Neste trabalho experimental avaliou-se pela primeira vez a função do eixo HA em gatos com vários tipos de neoplasias não-hematopoiéticas em comparação com gatos saudáveis.

A idade média dos gatos saudáveis era significativamente inferior à idade média dos gatos com doença oncológica. A idade média elevada verificada no grupo com doença oncológica, corrobora com a predisposição geriátrica da doença em causa. O efeito da idade na função do eixo HA em gatos não foi ainda clarificado, mas é, provavelmente, pouco significativo. De acordo com os estudos realizados em cães com idades diversas, não foi encontrada diferença significativa entre os diferentes grupos etários relativamente às concentrações plasmáticas de cortisol basal (Palazzolo & Quadri, 1987) e pós-estimulação pela ACTH (Breznock & McQueen, 1970). Estes resultados estão de acordo com os dados existentes na literatura sobre seres humanos, nos quais não foi demonstrado nenhum efeito da idade na secreção adrenal de cortisol basal e pós-estimulação (Ferrari et al., 2001). No entanto, Boscaro et al., (1998) demonstraram um aumento temporal significativo na iniciação da resposta hipofisária ao retrocontrolo negativo exercido pelos glucocorticóides (inibição da secreção de ACTH) em indivíduos geriátricos. Por outro lado, os intervalos de referência laboratoriais são estabelecidos através da avaliação de um grande número de animais, na sua maioria de idade média a avançada (Boozer et al., 2005). Desta forma, as alterações verificadas nas concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação e de ACTH endógena em algumas gatas deverão representar valores anómalos verdadeiros e não apenas efeitos da idade.

Relativamente às concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação bem como de ACTH endógena, não foram detectadas diferenças estatísticas entre o grupo controlo e o grupo com doença oncológica. A inexistência de diferença estatística verificada pode ser devida a vários factores. Em primeiro lugar, o tamanho da amostra é muito pequeno, não permitindo estabelecer uma distribuição representativa da população. Em segundo lugar, foram também verificadas alterações nos resultados obtidos nos doseamentos hormonais relativos à função do eixo HA no grupo controlo, o que aumentou a distribuição da variável, dificultando a demonstração de diferença significativa.

Embora a frequência relativa de cada valor anómalo individual no grupo com doença oncológica, medido a nível das cortisolémias basal e pós-estimulação, seja baixa e não se tenha detectado qualquer diferença estatística entre os grupos, a frequência relativa de alteração na concentração plasmática de ACTH endógena foi alta (60%) e 80% dos animais

doentes tinham, pelo menos, um resultado, nos doseamentos hormonais efectuados, sugestivo de insuficiência da hipófise ou de possível estimulação das glândulas adrenais. O significado clínico destes resultados não foi determinado.

Dos 5 doentes oncológicos estudados, uma gata (20%) tinha a concentração plasmática de cortisol basal aumentada sem outras alterações. Por si próprio, o aumento da cortisolémia basal não permite diagnosticar a presença de hiperfunção adrenal, não sendo recomendado a utilização isolada da concentração plasmática de cortisol basal como parâmetro de avaliação da actividade adrenal, uma vez que a hormona é secretada de forma episódica, originando numa constante variação dos valores de cortisolémia ao longo do dia (Kemppainen & Peterson, 1996; Herrtage, 2004). No entanto, num estudo envolvendo doentes oncológicos humanos, foi demonstrado que o aumento da cortisolémia basal associado a supressão diminuída em resposta à administração de dexametasona estava relacionado com um prognóstico reservado (Bishop & Ross, 1971). Contudo, no presente trabalho, não foi verificado se a gata doente com hipercortisolémia basal apresentava simultaneamente resistência à dexametasona. O aumento da concentração plasmática de cortisol observado poderá também ter sido promovido pelo stress quer da manipulação e ambiente envolvente quer do estado de doença, uma vez que as situações de stress podem sobrepor-se aos mecanismos de retrocontrolo negativo, desencadeando-se uma elevação marcada na cortisolémia, mediada por catecolaminas (Strina, 2004; Mazzuco, 2005). Embora seja pouco provável, dado os valores normais de ACTH endógena verificados, estes resultados poderiam ainda ser significativos da presença de dissociação entre as concentrações plasmáticas de ACTH e de cortisol (segunda fase de adaptação do eixo HHA ao estado de doença), promovida por mecanismos de regulação da secreção adrenocortical, extra-hipofisários e que foi documentada em doentes humanos não-adrenais (Vermes et al., 1995; Dimopoulou et al., 2002).

O stress bem como o carácter episódico da secreção de cortisol poderão também explicar a hipercortisolémia verificada numa gata pertencente ao grupo controlo, uma vez que esta não apresentou nenhuma outra alteração (a nível de anamnese, exame físico e análises hematológicas e bioquímicas sanguíneas) indicativa de presença de endocrinopatia ou de outra afecção passível de alterar a função do eixo HA.

Relativamente à cortisolémia pós-estimulação pela ACTH, uma gata (20%) pertencente ao grupo com doença oncológica, apresentou resposta diminuída à administração de hormona hipofisária, apresentando outra gata do mesmo grupo, um resultado próximo ao limite inferior do intervalo de referência. Ambas as gatas tinham valores de ACTH endógena inferiores aos limites normais, o que é consistente com função hipofisária diminuída. No caso de insuficiência adrenal, o efeito do retrocontrolo negativo na hipófise não se exerceria, o que se traduziria numa elevação da concentração plasmática de ACTH endógena. Estes resultados estão de acordo com aqueles demonstrados por Boozer et al. (2005), segundo os

quais se evidenciou a existência de insuficiência hipofisária em 17% dos cães com doença oncológica estudados. Contrariamente, segundo Farrelly et al., (1999, citado em Boozer et al., 2005), 5 dos 9 gatos com linfoma e resposta diminuída à ACTH, apresentavam uma elevada concentração plasmática de ACTH endógena, sugerindo a existência de insuficiência adrenal. Numa gata pertencente ao grupo controlo, verificou-se uma cortisolémia pós-estimulação próximo ao limite inferior do intervalo de referência e concomitante concentração plasmática de ACTH endógena elevada, o que poderá indiciar a presença de função adrenal diminuída. Por outro lado, tal como acontece com o cortisol, também a secreção de ACTH apresenta um carácter pulsátil e episódico, o que poderá explicar a elevada concentração plasmática de hormona hipofisária observada.

Na elaboração deste trabalho experimental existiram algumas limitações. O tamanho dos grupos em estudo foi bastante reduzido e constituído apenas por fêmeas, factos que são devidos à casuística apresentada à consulta externa do hospital escolar da FMV-UTL durante o período em que decorreu o presente estudo bem como à inexistência de apoio financeiro para a realização do mesmo. Desta forma, a ausência de significância estatística detectada deve ser interpretada cuidadosamente. Relativamente ao sexo, não existem evidências documentadas sobre o seu efeito na função do eixo HA em gatos. Contudo, segundo um estudo realizado em cães, foi demonstrado uma resposta menor ao teste de estimulação pela ACTH em machos não orquiectomizados em comparação com machos orquiectomizados e com fêmeas não ovariectomizadas e ovariectomizadas. Requerem-se assim estudos adicionais neste âmbito.

Outra das limitações do estudo consistiu na existência de parcialidade aquando da introdução de animais com doença oncológica severa. De facto, os proprietários de doentes oncológicos em estado crítico não foram abordados para participar no estudo, dado a situação de stress provocada pela doença do seu animal. Porém, todos os proprietários abordados, concordaram com a participação dos seus animais no estudo. Por outro lado, também os animais com doença oncológica avançada, a necessitar de cirurgia ou de métodos de diagnóstico urgentes que requeriam anestesia ou sedação, foram excluídos. Podem ainda ter sido introduzidos artefactos pela falha na identificação de todos os animais aos quais foram administrados glucocorticóides exógenos por via tópica ou sistémica, uma vez que esta teve por base o questionamento dos proprietários e a história clínica presente na ficha clínica do hospital escolar da FMV-UTL. Por último, a decisão de limitar os critérios de exclusão para o uso de glucocorticóides exógenos nas 4 semanas prévias poderá não ter sido suficiente para todas as gatas.

## 1.5 Conclusão

Em conclusão, nenhuma diferença estatística foi demonstrada entre as gatas saudáveis e as gatas com doença oncológica relativamente às concentrações plasmáticas de cortisol basal e pós-estimulação pela ACTH bem como de ACTH endógena. Contudo, os resultados indiciam a existência de hipofunção do eixo HA, com origem hipofisária, em gatas com doença oncológica. A fisiopatologia e o significado clínico destes dados, bem como a terapêutica indicada para as alterações da função do eixo HA, constituem uma área por avaliar. Por exemplo, em gatos com linfoma, a eficaz e rápida resposta clínica à administração de prednisona foi sugerida por Farrelly et al. (1999, citado em Boozer et al., 2005), como sendo promovida pela correcção da insuficiência adrenal, em detrimento dos efeitos antitumorais directos. Requer-se, assim, a realização de investigação adicional, que se concretize numa recolha, análise e interpretação de dados representativas, de forma a esclarecer e validar os resultados demonstrados no presente estudo, promovendo assim um suporte para uma abordagem médica adequada e bem sucedida desta problemática. Neste âmbito, revelar-se-ia de elevado interesse, a avaliação da correlação entre as alterações do eixo HA e o prognóstico.

É por isso importante que o clínico esteja consciente do possível desenvolvimento de alterações na função do eixo HHA no decurso de doença não adrenal, nomeadamente de doença oncológica, devendo ser encorajado o recurso a uma abordagem diagnóstica caso se verifique suspeita clínica.

Por último, é ainda de referir que esta dissertação permitiu reconhecer a necessidade da elaboração de uma sistematização bem como de um aprofundamento dos conhecimentos científicos sobre a estrutura e função do eixo HHA na espécie felina, para uma melhor compreensão do mesmo, assim como, para uma abordagem clínica melhor e mais específica por parte do médico veterinário, numa prática clínica veterinária que se pretende que responda de uma forma eficaz às constantes exigências da saúde animal.

---

## Bibliografia

---

- Anisman, H., Baines, M.G., Berczi, I., Bernstein, C.N., Blennerhassett, M.G., Gorczynski, R.M., Greenberg, A.H., Kisil, F.T., Mathison, R.D., Nagy, E., Nance, D.M., Perdue, M.H., Pomerantz, D.K., Sabbadini, E.D., Stanis, A. & Warrington, R.J. (1996). Neuroimmune mechanisms in health and disease: 2. disease. *Canadian Medical Association Journal*, 155 (8), 1075-1082.
- Ashton J. A. & Simmons J. P. (2008). Relative adrenal insufficiency in critically ill patients. *Standards of Care: Emergency and Critical Care Medicine*, 10 (8), 7-11.
- Barthez, P. Y., Nyland, T. G. & Feldman, E. C. (1995). Ultrasonographic evaluation of the adrenal glands in dogs. *JAVMA*, 207 (9), 1180-1183.
- Benjannet, S., Rondeau, N., Day, R., Chrétien M. & Seidah, N. G. (1991). PCI and PC2 are proprotein convertases capable of cleaving proopiomelanocortin at distinct pairs of basic residues. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 88, 3564-3568.
- Bergman, P. J. (2007). Paraneoplastic syndromes. In: S. J. Withrow & D. M. Vail, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (4<sup>th</sup> edition), (pp. 77-94), Canada: Saunders Elsevier.
- Bertoy, E. H., Feldman, E. C., Nelson, R. W., Duesberg, C. A., Kass, P. H., Reid, M. H. & Dublin, A. B. (1995) Magnetic resonance imaging of the brain in dogs with recently diagnosed but untreated pituitary-dependent hyperadrenocorticism. *JAVMA*, 206, 651-656.
- Bishop, M.C. & Ross, E.J. (1971). Adrenocortical activity in disseminated malignant disease in relation to prognosis. *British Journal of Cancer*, 25, 719-725.
- Boozer, A.L., Behrend, E.N., Kemppainen, R.J., Whitley, E. M., Smith, A. N., Busch, K. A. (2005). Pituitary-adrenal axis function in dogs with neoplasia. *Veterinary and Comparative Oncology*, 3 (4), 194-202.
- Boscaro M., Paoletta A., Scarpa E., Barzon L., Fusaro P, Fallo F. & Sonino N. (1998). Age-related changes in glucocorticoid fast feedback inhibition of adrenocorticotropin in man. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 83 (4), 1380-1383.
- Breznock, E. M. & McQueen, R. D. (1970). Adrenocortical function during aging in the dog. *American Journal of Veterinary Research*, 31 (7), 1269-1273.
- Burgener, I.A., Gerold, A., Tomek, A., Konar, M. (2007). Empty sella syndrome, hyperadrenocorticism and megaesophagus in a dachshund. *Journal of Small Animal Practice*, 48 (1), 584 - 587.
- Burkitt, J. M., Haskins, S. C., Nelson, R. W. & Kass, P. H. (2007). Relative adrenal insufficiency in dogs with sepsis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 226-231.
- Capen, C. C. (2007). Endocrine Glands. In: M.G. Maxie (Ed.), *Jubb, Kennedy & Palmer's Pathology of domestic animals - volume 3* (5<sup>th</sup> edition), (pp. 334-419), China: Saunders Elsevier.



- Carney, J. A. & Lloyd, R. V. (2007). Adrenal. In: S. E. Mills, *Histology for pathologists*, (3<sup>rd</sup> edition), (pp. 1167-1188). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Cartee, R. E. & Finn-Bodner, S. T. (1993). Ultrasound examination of the feline adrenal gland. *Journal of Medical Sonography*, 9, 327-330.
- Cauvin, A. L., Witt, A. L., Groves, E., Neiger, R., Martinez, T. & Church, D. B. (2003). The urinary corticoid:creatinine ratio (UCCR) in healthy cats undergoing hospitalisation [abstract]. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 5 (6), 329-333. Acedido em Agosto 24, 2009 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14623202>
- Chako, S.T., Jonh, G., Thomas, N. & Nellickal, A. J. (2004). Subclinical hypocortisolemia in patients with sepsis in a medical intensive care unit in India (the ships study). *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 8 (3), 162-167.
- Chan, O., Chan, S., Inouye, K., Shum, K., Matthews, S. G. & Vranic, M. (2002). Diabetes impairs hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) responses to hypoglycemia, and insulin treatment normalizes HPA but not epinephrine responses. *Diabetes*, 51, 1681-1689.
- Chan, O., Inouye, K., Riddell, M. C., Vranic, M. & Matthews, S.G. (2003). Diabetes and the hypothalamo-pituitary-adrenal (HPA) axis [abstract]. *Minerva Endocrinology*, 28 (2), 87-102. Acedido em Agosto 24, 2009 em : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12717340>
- Charondiere, A. (2003). *Les affections de l'hypophyse chez les animaux de compagnie, de loisir et de sport*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Lyon: Université Claude-Bernard
- Chastain, C. B., Franklin, R. T., Ganjam, V. K. & Madsen, R. W. (1986). Evaluation of the hypothalamic pituitary-adrenal axis in clinically stressed dogs [Abstract]. *Journal of American Animal Hospital Association*, 22, 435-442.
- Chrousos, G. (1995). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and immune-mediated inflammation. *Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston, The New England Journal*, 332 (20), 1351-1362.
- Cleare, A. J., Miell, J., Heap, E., Sookdeo, S., Young, L., Malhi, G. S. & O'Keane (2001). Hypothalamo-pituitary-adrenal axis dysfunction in chronic fatigue syndrome, and the effects of low-dose hydrocortisone therapy. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 86 (8), 3545-3554.
- Coe, S.G., Tan, W.W. & Fox, T.P. (2008). Cushing's syndrome due to ectopic adrenocorticotrophic hormone production secondary to hepatic carcinoid: diagnosis, treatment, and improved quality of life. *Journal of General Internal Medicine*, 23 (6), 875-878.
- Cohen, J., Ward, G., Prins, J., Jones, M. & Venkatesh, B. (2006). Variability of cortisol assays can confound the diagnosis of adrenal insufficiency in the critically ill population. *Intensive Care Medicine*, 32, 1901-1905.
- Courouge, C. (2004). *Les effets indésirables des glucocorticoïdes chez le chien et le chat*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Lyon: Université Claude-Bernard.
- Coveñas, R., De León, M., Narváez, J. A., Tramu, G., Aguirre, J. A. & González-Barón, S. (1996). An immunocytochemical mapping of ACTH/CLIP in the cat diencephalon [abstract]. *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 11 (3), 191-197. Acedido em Maio 20, 2009 em : <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8906460>

- Cullen, J M., Page, R. & Misdorp, W. (2002). An overview of cancer pathogenesis, diagnosis and management. In D. J. Meuten (ed.), *Tumors in Domestic Animals* (4<sup>th</sup> Edition), (pp. 20-25) Iowa: Iowa State Press.
- Cunningham, J.G. (1999). *Tratado de Fisiologia Veterinária* (2ª edição), RJ: Editora Guanabara Koogan S.A.
- De Jong, M.F.C., Beishuizen, A., Spijkstra, J.J., Girbes, A.R.J. & Groeneveld, A.B.J. (2007). Relative adrenal insufficiency: an identifiable entity in nonseptic critically ill patients? *Clinical Endocrinology* 66, 732–739.
- De Lange, M. S., Galac, S., Trip, M. R. J. & Kooistra, H. S. (2004). High urinary corticoid/creatinine ratios in cats with hyperthyroidism. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 28 (2), 152-155.
- Del Rey, A., Besedovsky, H. & Sorkin, E. (1984). Endogenous blood levels of corticosterone control the immunologic cell mass and B cell activity in mice. *The Journal of Immunology*, 133 (2), 572-575.
- Dickstein, G., Shechner, C., Nicholson, W. E., Rosner, I., Shen-Orr, Z., Adawi, F. & Lahav, M. (1991). Adrenocorticotropin stimulation test: effects of basal cortisol level, time of day and suggested new sensitive low dose test. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 71 (4), 773 – 778.
- Dimopoulou, I., Ílias, I., Roussou, P., Gavala, A., Malefaki, A., Milou, E., Pitaridis, M. & Roussos, C. (2002). Adrenal function in non-septic long-stay critically ill patients: evaluation with the low-dose (1 µg) corticotropin stimulation test. *Intensive Care Medicine*, 28, 1168–1171.
- Drucker, D. & Shandling, M. (1985). Variable adrenocortical function in acute medical illness. *Critical Care Medicine*, 13 (6), 477-479.
- Duesberg, C. & Peterson, M. E. (1997). Adrenal disorders in cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 27 (2), 321-342.
- Engler, D., Redei E., Kola I. (1999). The corticotropin-release inhibitory factor hypothesis: a review of the evidence for the existence of inhibitory as well as stimulatory hypophysiotropic regulation of adrenocorticotropin secretion and biosynthesis. *Endocrine Reviews*, 20 (4), 460-500.
- Everaus, H. (1992). Hormones and immune responsiveness chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia and Lymphoma*, 8 (6), 483 – 489.
- Everaus, H., Hein, M. & Zilmer, K. (1993). Possible imbalance of the immuno-hormonal axis in multiple myeloma. *Leukemia and Lymphoma*, 11 (5), 453 – 458.
- Everaus H., Lehtmaa J., Luik E. & Kódar H. (1992). Immune and hormonal changes in early-stage chronic lymphocytic leukemia patients. *Annals of Hematology*, 65, 219-223.
- Everaus H., Luik E. & Lehtmaa J. (1997). Active and indolent chronic lymphocytic leukaemia– immune and hormonal peculiarities. *Cancer Immunology, Immunotherapy*, 45 (2), 109-114.
- Failly, N. (2002). *Aproche clinique des masses surrenales de decouverte fortuite chez les carnivores domestiques: etude bibliographique*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Paris : École Nationale Vétérinaire d' Alfort.

- Fazel, P., Ganesa, P., Mennel, R.G. & Austin, N.A. (2008). The ectopic adrenocorticotrophic hormone syndrome in carcinoid tumors. *Proceedings (Baylor University Medical Center)*, 21 (2), 140-143.
- Feldman, E.C. & Nelson, R.W. (2004a). Canine hyperadrenocorticism (cushing's syndrome) In E. C. Feldman & R. W. Nelson, *Canine and feline endocrinology and reproduction* (3<sup>rd</sup> edition), (pp. 253-344). Philadelphia: WB Saunders Co..
- Feldman, E.C. & Nelson, R.W. (2004b). Hyperadrenocorticism in cats (cushing's syndrome) In E. C. Feldman & R. W. Nelson, *Canine and feline endocrinology and reproduction* (3<sup>rd</sup> edition), (pp. 358-384). Philadelphia: WB Saunders Co..
- Feldman, E.C. & Nelson, R.W. (2004c). Hypoadrenocorticism (addison's disease) In E. C. Feldman & R. W. Nelson, *Canine and feline endocrinology and reproduction* (3<sup>rd</sup> edition), (pp. 394-442). Philadelphia: WB Saunders Co..
- Ferlito, A., Elsheikh, M.N., Manni, J.J. & Rinaldo, A. (2007). Paraneoplastic syndromes in patients with primary head and neck cancer. *Eur Arch Otorhinolaryngol*, 264, 211–222.
- Ferrari E., Cravello L., Muzzoni B., Casarotti D., Paltro M., Solerte S.B., Fioravanti M., Cuzzoni G., Pontiggia B. & Magri F. (2001). Age-related changes of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis: pathophysiological correlates. *European Journal of Endocrinology*, 144, 319-329.
- Fossum T.W. (2007). *Small Animal Surgery* (3<sup>rd</sup> Edition), (pp. 574-586). Missouri (USA): C.V. Mosby.
- Galac, S., Kooistra, H.S., Voorhout, G., van den Ingh, T.S.G.A.M., Mol, J.A., van den Berg, G., Meij, B.P. (2005). Hyperadrenocorticism in a dog due to ectopic secretion of adrenocorticotrophic hormone. *Domestic Animal Endocrinology*, 28, 338-348. Acedido em Julho 10, 2009 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15760674>
- Gamelin E., Beldent V., Rousselet M. C., Rieux D., Rohmer V., Ifrah N., Boasson M. & Bigorgne J. C. (1999). Non-hodgkin's lymphoma presenting with primary adrenal insufficiency: a disease with an underestimated frequency? *Cancer*, 69 (9), 2333-2336.
- Ganon, T.A., Britt, R.C., Weireter, L.J., Cole, F.J., Collins, J.N. & Britt, L.D. (2006). Adrenal insufficiency in the critically ill trauma population. *The American Surgeon*, 72, 373-376.
- Getty, R.G. (1986). *Sisson/Grossman Anatomia dos animais domésticos* (5<sup>a</sup> edição). WB Saunders RJ: Editora Guanabara Koogan.
- Gieger, T. L., Feldman, E. C., Wallack, S.T. & Dank, G. (2003). Lymphoma as a model for chronic illness: effects on adrenocortical function testing. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 17, 154-157.
- Gorman, N. T. & Dobson, J. (1990). Paraneoplastic syndromes. In: M. Hutchison, *BSAVA Manual of small animal endocrinology* (pp. 197-205). BSAVA
- Greco, D. S., Behrend, E. N., Brown, S. A., Rosychuk, R. A. W. & Groman, R. P. (1998). Pharmacokinetics of exogenous corticotropin in normal dogs, hospitalized dogs with non adrenal illness and adrenopathic dogs. *Journal Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 21, 369-374.

- Gunn, J., Cuthbert, R. & Trueman, A. (1992). Lymphoma presenting with addison's disease. *Journal of Postgraduate Medicine*, 68, 229 – 231.
- Gunn-Moore, D. (2005). Feline endocrinopathies. *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*, 35 (1), 171-203.
- Gurtner, A. (2003). *Hyperparathyroïdie et syndrome de cushing chez le chien : étude bibliographique et expérimentale*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Lyon: Université Claude-Bernard.
- Guyton, A. C. & Hall, J. E. (2000). *Textbook of medical physiology*. (10<sup>th</sup> edition). Philadelphia: WB Saunders Co.
- Harris, G. J., Tio, F. O. & Von Hoff, D. D. (1989). Primary adrenal lymphoma. *Cancer*, 63 (4), 799-803.
- Hasan, R. I., Yonan, N. A. & Lawson, R.A. (1991). Adrenal insufficiency due to bilateral metastases of the oesophagus from oat cell carcinoma. *European Journal Cardio-thoracic Surgery*, 5, 336-337.
- Herrtage, M.E. (1990). The adrenal glands. In: M. Hutchison, *BSAVA Manual of small animal endocrinology* (pp. 73-104). BSAVA.
- Herrtage, M.E. (2004). Canine hyperadrenocorticism. In C. T. Mooney & M. E. Peterson, *BSAVA manual of canine and feline endocrinology* (3<sup>rd</sup> Edition), (pp. 150-171). Gloucester: BSAVA.
- Hummer, D., Garty, M., Lapidot, M., Leiba, S., Borohov, H., Rosenfeld, J.(1988) Lymphoma presenting with adrenal insufficiency adrenal enlargement on computed tomographic scanning as a clue to diagnosis [abstract]. *The American Journal of Medicine*, 84 (1), 169-172. Acedido em Julho 24, 2009 em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/0002934388900290>
- Hurcombe, S. D. A., Toribio, R. E., Slovis, N., Kohn, C. W., Refsal, K., Saville, W. & Mudge, M. C. (2008). Blood arginine vasopressin, adrenocorticotropin hormone, and cortisol concentrations at admission in septic and critically ill foals and their association with survival. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 22 (3), 639-647.
- Javadi, S., Slingerland, L. I., van de Beek, M. G., Boer, P., Boer, W. H., Mol, J. A. , Rijnberk, A. & Kooistra, H. S. (2004). Plasma rennin activity and plasma concentrations of aldosterona, cortisol, adrenocorticotrophic hormone and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone in healthy cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 18, 625-631.
- Jenkins P.J., Sohaib S. A., Trainer P. J., Lister T., Besser G. M. & Reznick R. (1999). Adrenal enlargement and failure of suppression of circulating cortisol by dexamethasone in patients with malignancy. *British Journal of Cancer*, 80(11), 1815–1819.
- Joubert, E. (2002). *Modifications biologiques induites par l'hypercorticisme chez le chien: synthèse bibliographique*. Thèse pour le grade de Docteur Vétérinaire. École Nationale Vétérinaire de Toulouse.
- Junior, C. T. S. & Cardoso, G. P. (2003). Expressão hormonal e metabólica dos carcinomas broncogênicos. *Revista Portuguesa de Pneumologia*, 9 (2), 109-115.
- Junqueira, L.C. & Carneiro, J. (2008). *Histologia Básica*. (11<sup>a</sup> Edição), (pp. 389-401). RJ: Guanabara Koogan.

- Jurney, T. H., Cockrell, J. L., Lindberg, J. S., Lamiell, J. M. & Wade, C. E. (1987). Spectrum of serum cortisol response to ACTH in ICU patients. Correlation with degree of illness and mortality. *Chest*, 92, 292-295.
- Kaplan, N. M. (2000). The adrenal glands. In: J. E. Griffin & S. R. Ojeda, *Textbook of endocrine physiology* (4<sup>th</sup> edition) (pp.328-355). NY: Oxford university press Inc..
- Kaplan, A. J., Peterson, M. E. & Kemppainen, R. J. (1995). Effects of disease on the results of diagnostic tests for use in detecting hyperadrenocorticism in dogs. *JAVMA*, 207 (4), 445-450.
- Kemppainen, R. J. & Peterson, M. E. (1996). Domestic cats show episodic variation in plasma concentrations of adrenocorticotropin,  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone ( $\alpha$ -MSH), cortisol and thyroxine with circadian variation in plasma  $\alpha$ -MSH concentrations. *European Journal of Endocrinology*, 134, 602-609.
- Kemppainen, R. J. & Peterson, M. E. (1999). Regulation of  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone secretion from the pars intermedia of domestic cats. *American Journal of Veterinary Research*, 60 (2), 245-249.
- Kemppainen, R. J. & Sartin, J. L. (1986). In vivo evidence for dopaminergic regulation of the canine pituitary intermediate lobe. *Acta Endocrinologica (Copenh)*, 13, 471-476.
- Kerl, M. E., Peterson, M. E., Wallace, M., Melián, C. & Kemppainen, R. J. (1999). Evaluation of a low-dose synthetic adrenocorticotrophic hormone stimulation test in clinically normal dogs and dogs with naturally developing hyperadrenocorticism. *JAVMA*, 214 (10), 1497-1501.
- Lardinois, C. K., Zeng, C. L. & Marshall, M. K. (1993). Acute adrenal insufficiency in association with pancreatic carcinoma. *Archives of Family Medicine*, 2 (11), 1194-1197.
- Lennon, E.M., Boyle, T., Hutcins R.G., Correa, M.T., Bisset, S.A., Moses, L.S., Papich, M.G. & Birkenheuer, A.J. (2007) Use of basal serum or plasma cortisol concentrations to rule out a diagnosis of hypoadrenocorticism in dogs. *JAVMA*, 231(3), 413-415.
- Ligtenberg, J.J.L., van der Werf, T.J., Tuieken, J.T., Beentjes, J.A.M. & Zijlstra, J.G. (1999). Diagnosis of relative adrenal insufficiency in critically ill patients. *The Lancet*, 354, 774-775.
- Lopes, M. B., Pernicone, P. J., Scheithauer, B. W., Horvath, E. & Kovacs, K. (2007). Pituitary and sellar region. In: S. E Mills, *Histology for pathologists*, (3rd edition) (321-343). Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Lowe, A. D., Campbell, K. L., Barger, A., Schaeffer, D. J. & Borst, L. (2008). Clinical, clinicopathological and histological changes observed in 14 cats treated with glucocorticóides. *The Veterinary Record*, 162, 777-783.
- Martinez, E. & Marcos, A. (1991). Cortisol response to corticotropin and survival in septic shock. *The Lancet*, 337, 1230-1231.
- Martin, L. G., Groman, R. P., Fletcher, D. J., Behrend, E. N., Kemppainen, R. J., Moser, V. R. & Hickey, K. C. (2008). Pituitary-adrenal function in dogs with acute critical illness. *JAVMA*, 233 (1), 87-95.

- Matamoros, R., Gomez, C. & Andaur, M. (2002). Hormones of diagnostic value in veterinary medicine. *Archives de Medicina Veterinária*, 34 (2), 167-177.
- Mazzuco, T. L. (2005). *Contribution de l'expression anormal de recepteurs couples aux protéines G à la tumorigenese cortico-surrénalienne*. Thèse pour le Doctorat en Biologie Cellulaire et Moléculaire. Grenoble : École Doctorale de Chimie et Sciences du Vivant.
- Meij, B. P., Voorhout, G, Van Den Ingh, T. S. G. A. M. & Rijnberk, A. D. (2001). Transsphenoidal hypophysectomy for treatment of pituitary-depedent hyperadrenocorticism in 7 cats. *Veterinary Surgery*, 30, 72-86.
- Munck, A., Guyre, P. M. & Holbrook, N. J. (1984). Physiological functions of glucocorticóides in stress and their relation to pharmacological actions. *Endocrine Reviews*, 5 (1), 25-44.
- Nicolas, P.G. (2004) *Dosage plasmatique des précurseurs de l'ACTH lors de maladie de Cushing chez le chien : intérêt pour la detection des adénomes hypophysaires de grand taille*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Paris : École Nationale Veterinaire d'Alfort.
- Nyland, T. G., Mattoon, J. S., Herrgesell, E. J. & Wisner, E. R. (2001). Adrenal Glands. In T. G. Nyland & J. S. Mattoon, *Small Animal Diagnostic Ultrasound* (2<sup>nd</sup> edition). (pp. 196-206). Philadelphia: WB Saunders Co..
- Ogilvie, G. K., Weigel, R. M., Haschek, W. M., Withrow, S. J., Richardson, R. C., Harvey, H.J., Henderson, R.A., Fowler, J. D., Norris, A. M. & Tomlinson, J. (1989). Prognostic factors for tumor remission and survival in dogs after surgery for primary lung tumor: 76 cases (1975-1985). *JAVMA*, 195 (1), 109-112.
- Ojede, S. R. & MacCann, S. M. (2000). The anterior pituitary and hypothalamus. In: J. E. Griffin & S. R. Ojede, *Textbook of endocrine physiology* (4<sup>th</sup> edition) (pp.128-142). NY: Oxford university press Inc..
- Oppert, M., Schindler, R., Husung, C., Offermann, K., Gräf, K. J., Boenisch, O., Barckow, D., Frei, F. & Eckardt, K. U. (2005) Low-dose hydrocortisone improves shock reversal and reduces cytokine levels in early hyperdynamic septic shock. *Critical Care Medicine*, 33 (11), 2457-2464.
- Palazzolo, D.L. & Quadri, S.K. (1987). Plasma thyroxine and cortisol under basal conditions and during cold stress in the aging dog [abstract]. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 185, 305–311. Acedido em Set. 2, 2009 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3601949>
- Paling, M. R. & Williamson, B. R. (1983). Adrenal involvement in non-hodgkin lymphoma. *American Journal of Roentgen*, 141, 303-305.
- Parnell, N.K., Powell, L.L., Hohenhaus, A. E., Patnaik, A. K. & Peterson, M.E. (1999). Hypoadrenocorticism as the primary manifestation of lymphoma in two cats. *JAVMA*, 214, 127–137.
- Pesini, P., Pego-Reigosa, R., Tramu, G., Covenas, R. (2004). Distribution of ACTH immunoreactivity in the diencephalon and the brainstem of the dog [abstract], *Journal of Chemical Neuroanatomy*, 27 (4), 275-282.
- Peterson, M.E. (2004). Feline hyperadrenocorticism and Feline hypoadrenocorticism. In C. T. Mooney & M. E. Peterson, *BSAVA manual of canine and feline endocrinology* (3<sup>rd</sup> Edition), (pp. 205-216). Gloucester: BSAVA.



- Peterson M.E. (2007) Diagnosis of Hyperadrenocorticism in Dogs. *Clinical Techniques in Small Animal Practice*, 02 (007), 2-11.
- Peterson, M. E. & Kemppainen, R. J. (1992a). Comparison of intravenous and intramuscular routes of administering cosyntropin for corticotropin stimulation testing in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 53 (8), 1392 – 1395.
- Peterson, M. E. & Kemppainen, R. J. (1992b). Comparison of the immunoreactive plasma corticotropin and cortisol responses to two synthetic corticotropin preparations (tetracosactrin and cosyntropin) for corticotropin stimulation testing in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 54 (2), 300 – 304.
- Peterson, M. E. & Kemppainen, R. J. (1993). Dose-response relation between plasma concentrations of corticotropin and cortisol after administration of incremental doses of cosyntropin in healthy cats. *American Journal of Veterinary Research*, 53 (10), 1752 – 1755.
- Peterson, M.E., Kintzer, P.P. & Kass, P.H. (1996). Pretreatment clinical and laboratory findings in dogs with hypoadrenocorticism: 225 cases (1979-1993). *JAVMA*, 208 (1), 85-90.
- Phillipon, A. (2005). *Les syndromes paraneoplasiques chez le chien et le chat- étude bibliographique*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Lyon : École Nationale Vétérinaire de Lyon
- Prittie, J. E., Barton, L. J., Peterson, M. E., Kemppainen, R. J., Herr, L. G. & Fox, P. R. (2002). Pituitary ACTH and adrenocortical secretion in critically ill dogs. *JAVMA*, 220 (5), 615-619.
- Prosser, C. L. (1973). *Comparative animal physiology* (3<sup>rd</sup> edition), (pp. 864-869). Philadelphia: WB Saunders Co.
- Randall, D., Burggren, W. & French, K. (1998). *Eckert animal physiology* (4<sup>th</sup> edition), NY: W. H. Freeman and Company.
- Rao J.K., Hu H., Prasad C. & Jayaramen A. (1986). The distribution pattern of adrenocorticotropin-like immunoreactivity in the cat central nervous system [abstract]. *Neuroscience Letters*, 71 (1), 48-52. Acedido em Maio 20, 2009 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3024071>
- Redden, B. (2005). Feline Hypoadrenocorticism. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 27 (9), 697–706.
- Reincke, M., Allolio, B., Wurth, G. & Winkelmann, W. (1993). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis in critical illness: response to dexamethasone and corticotropin-releasing hormone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 77 (1), 151-156.
- Reusch, C.E. (2005). *Hypoadrenocorticism*. In S.J. Feldman & E. Ettinger, *Textbook of veterinary internal medicine*, (pp. 1488-1499). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Ricklin, A. (2005). *Diagnostic et suivi thérapeutique du syndrome de cushing : dosage des phosphatases alcalines cortico-induites*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Lyon : École Nationale Vétérinaire de Lyon.

- Rijnberk, A. (1996). *Clinical endocrinology of dogs and cats*. Netherlands: Kluwer Academic Publishers.
- Rosman, P. M., Farag, A., Peckham, R., Benn, R., Tito, J., Bacci, V. & Wallace, E. Z. (1982). Pituitary-adrenocortical function in chronic renal failure: blunted suppression and early escape of plasma cortisol levels after intravenous dexamethasone [abstract]. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 54 (3), 528-533. Acedido Agosto 22, 2009 em: <http://jcem.endojournals.org/cgi/content/abstract/54/3/528>
- Schein, R. M., Sprung, C.L., Marcial, E., Napolitano, L., Chernow, B. (1990). Plasma cortisol levels in patients with septic shock [abstract]. *Critical Care Medicine*, 18 (3), 259-263. Acedido em Agosto 24, 2009 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2302948>
- Schoeman, J. P., Evans, H. J., Childs, D. & Herrtage, M. E. (2000). Cortisol response to two different doses of intravenous synthetic ACTH (tetracosactrin) in overweight cats. *Journal of Small Animal Practice*, 41, 552-557.
- Schoeman, J. P., Goddard, A. & Herrtage, M. E. (2007). Serum cortisol and thyroxine concentrations as predictors of death in critically ill puppies with parvoviral diarrhea. *JAVMA*, 231 (10), 1534-1538.
- Seidenwurm, D.J., Elmer, E.B., Kaplan, L.M., Williams, E.K., Morris, D.G. & Hoffman, A. R. (1984). Metastases to the adrenal glands and the development of Addison's disease. *Cancer*, 54 (3), 552-557.
- Semple, C.G. (1986). Hormonal changes in non-endocrine disease. *British Medical Journal*, 293, 1049-1052.
- Serrano S., Tejedor L., Garcia B., Hallal H., Polo J.A. & Alguacil G. (1993.) Addisonian crisis as the presenting feature of bilateral primary adrenal lymphoma. *Cancer*, 71 (12), 4030-4033.
- Shantha, G. P. S., Kumar, A. A, Jeyachandran, V., Rajamanickam, D., Bhaskar, E., Paniker, V. K & Abraham, G. (2009). Paraneoplastic (non-metastatic) adrenal insufficiency preceded the onset of primary lung cancer by 12 weeks [abstract] [versão electrónica]. *BMJ Case Reports*. Acedido em Agosto 12, 2009 em: [http://casereports.bmj.com/cgi/content/abstract/2009/may25\\_1/bcr0820080690](http://casereports.bmj.com/cgi/content/abstract/2009/may25_1/bcr0820080690)
- Shepherd, F. A., Hoffert, B., Evans, W. K., Emery, G. & Trachtenberg, J. (1985). Ketoconazole: use in the treatment of ectopic adrenocorticotrophic hormone production and cushing's syndrome in small-cell lung cancer. *Archives of Internal Medicine*, 145, 863-864.
- Sibbald, W. J., Short, A., Cohen, M. P., & Wilson, R. F. (1977). Variations in adrenocortical responsiveness during severe bacterial infections - Unrecognized adrenocortical insufficiency in severe bacterial infections. *Annals of Surgery*, 186 (1), 29-33.
- Sirachainan, E. & Kalemkerian, G. P. (2002). Unusual presentations of lung cancer – Case 2. Adrenal insufficiency as the initial manifestation of non-small-cell lung cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 20 (23), 4597-4602.
- Smiley, L. E. & Peterson, M. E. (1993). Evaluation of a urine cortisol:creatinine ratio as a screening test for hypoadrenocorticism in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 7, 163–168.



- Smith, M. C. & Feldman, E. C. (1987). Plasma endogenous ACTH concentration and plasma cortisol responses to synthetic ACTH and dexamethasone sodium phosphate in healthy cats. *American Journal Veterinary Research*, 48 (12), 1719-1724.
- Span L. E. R., Hermus A. R. M. M., Bartelink A. K. M., Hoitsma A. J., Gimbrère J. S. F. , Smals A. G. H. & Kloppenborg P. W. C. (1992). Adrenocortical function: an indicator of severity of disease and survival in chronic critically ill patients. *Intensive Care Medicine*, 18, 93-96.
- Stonehewer, J. & Tasker, S. (2001). Hypoadrenocorticism in a cat. *Journal of Small Animal Practice*, 42, 186-190.
- Strina, A. (2004). *Quelle est la place des glucocorticoïdes dans le traitement du choc chez le chien?* Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Lyon : École Nationale Vétérinaire de Lyon.
- Thrall (2002). *Textbook of Veterinary Diagnostic Radiology* (4th edition), U.S.A: Saunders.
- Tranchard, A. (2007). *Dosage de l'ACTH pour le diagnostic étiologique de l'hypercorticisme chez le chien: étude bibliographique et expérimentale*. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire, Lyon : École Nationale Vétérinaire de Lyon.
- Tyson, R., Graham, J.P., Bermingham, E., Randall, S. & Berry, C.R. (2004). Dynamic computed tomography of the normal feline hypophysis cerebri (glandula pituitaria). *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 46 (1), 33-38.
- Uecker, J. M., & Janzow, M.T. (2005). A Case of cushing syndrome secondary to ectopic adrenocorticotrophic hormone producing carcinoid of the duodenum. *The American Surgeon*, 71, 445-446.
- Vermes, I., Beishuizen, A., Hampsink, R. M. & Haanen, C. (1995). Dissociation of plasma adrenocorticotropin and cortisol levels in critically ill patients: possible role of endothelin an atrial natriuretic hormone. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 80 (4), 1238-1242.
- Wallack, S. T., Wisner, E. R. & Feldman, E. C. (2003). Mensuration of the pituitary gland from pituitary gland from magnetic resonance images in 17 cats. *Veterinary radiology & ultrasound*, 44 (3), pp. 278-282.
- Watson, A. D. J. (1990). The pituitary gland. In M. Hutchison, *BSAVA Manual of small animal endocrinology* (pp. 9-11).
- Weber M. M., Michl P., Auernhammer C. J. & Engelhardt D. (1997). Interleukin-3 and interleukin-6 stimulate cortisol secretion from adult human adrenocortical cells. *Endocrinology*, 138 (5), 2207-2210.
- Willemse, T., Vroom, M. W., Mol, J. A. & Rijnberk, A. (1993). Changes in plasma cortisol, corticotropin and  $\alpha$ -melanocyte-stimulating hormone concentrations in cats before and after physical restraint and intradermal testing. *American Journal of Veterinary Research*, 54 (1), 69-72.
- Withrow, S. J. (2007). Why worry about cancer in pets? In: S. J. Withrow & D. M. Vail, *Withrow & MacEwen's Small Animal Clinical Oncology* (4<sup>th</sup> edition), (pp. xv), Canada: Saunders Elsevier.

- Zanella, A. B., Eyff, T. F., Dora, J. M., Gross, J. L. & Silveiro, S. P. (2007). Insuficiência adrenal primária como primeira manifestação de câncer pulmonar metastático. *Revista do Hospital de Clínicas de Porto Alegre*, 27 (3), 57-59.
- Zeiger, M. A, Pass, H. I., Doppman, J. D., Nieman, L.K, Chrousos, G. P., Cutler Jr., G. B., Jensen, R. T. & Norton, J. A. (1992). Surgical strategy in the management of non-small cell ectopic adrenocorticotrophic hormone syndrome. *Surgery*, 112 (6), 994-1001. Acedido em Set. 2, 2009 em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1333646>
- Zerbe, C. A (1999). The hypothalamic-pituitary-adrenal axis and pathophysiology of hyperadrenocorticism, *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 21, (12), 1134-1160.
- Zerbe, C. A (2000a). Screening tests to diagnose hyperadrenocorticism in cats and dogs. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 22, (1), 17-30.
- Zerbe, C. A (2000b). Differentiating tests to evaluate hyperadrenocorticism in dogs and cats. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian*, 22, (2), 149-157.
- Zerbe, C. A., Refsal, K. R., Peterson, M. E., Armstrong, P. J., Nachreiner, R. F. & Schall, W. D. (1987). *American Journal Veterinary Research*, 48 (3), 451-454.
- Zimmer, C., Horauf, A. & Reusch, C. (2000). Ultrasonographic examination of the adrenal gland and evaluation of the hypophyseal-adrenal axis in 20 cats. *Journal of Small Animal Practice*, 41, 156-160.